

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES
ANILIDES ET ANILES
CITRIQUES ET ACONITIQUES

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PHARMACIE ET PHARMACOLOGIE
DE LA FACULTE DE LYON

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTE MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON

et soutenue publiquement le 6 Janvier 1954.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE (Etat)

PAR

André CIER

Né le 7 Décembre 1919, à Nice (Alpes Maritimes)

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX
J. PATISSIER

1954

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES
ANILIDES ET ANILES
CITRIQUES ET ACONITIQUES



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1953-1954. — N° 1

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DES
ANILIDES ET ANILES
CITRIQUES ET ACONITIQUES

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PHARMACIE ET PHARMACOLOGIE
DE LA FACULTÉ DE LYON

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON

et soutenue publiquement le 6 Janvier 1954.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE (Etat)

PAR

André CIER

Né le 7 Décembre 1919, à Nice (Alpes Maritimes)

IMPRIMERIE DE TRÉVOUX

J. PATISSIER

1954

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire.....	M. J. LÉPINE
Doyen	M. H. HERMANN
Assesseur	M. J. GATÉ

Professeurs Honoraires

MM. NICOLAS, VILLARD, COLLET, CLUZET, BÉRARD, GUIART, PIÉRY, CADE.
PATEL, FAVRE, LÉPINE, SAVY, TRILLAT, LERICHE, MOURIQUAND

Professeurs

Clinique médicale A.....	FROMENT
Clinique médicale B.....	P. RAVAUULT
Clinique chirurgicale A.....	SANTY
Clinique chirurgicale B.....	WERTHEIMER
Clinique ophtalmologique.....	BONNET
Clinique oto-rhino-laryngologique.....	REBATTU
Clinique urologique.....	CIBERT
Clinique et prophylaxie de la tuberculose.....	DUFOURT
Clinique dermatologique et syphiligraphique.....	GATÉ
Clinique neuro-psychiatrique et Hygiène mentale..	DECHAUME
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie..	SÉDALLIAN
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	GUILLEMINET
Clinique gynécologique.....	POLLOSSON
Clinique obstétricale.....	PIGEAUD
Stomatologie	DUCLOS
Clinique médicale infantile et Hygiène du 1 ^{er} Age..	BERNHEIM
Pharmacie et Pharmacologie.....	LEULIER
Physiologie	HERMANN
Anatomie Pathologique.....	J. F. MARTIN
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie..	PONTHUS (<i>détaché à Beyrouth</i>)
Médecine du Travail.....	MAZEL
Parasitologie et Pathologie exotique.....	GARIN
Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire.	ROCHET
Chimie organique et toxicologie.....	CHAMBON
Pathologie générale et expérimentale.....	JOSSERAND
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	DELORE
Anatomie	GABRIELLE
Pathologie interne.....	CROIZAT
Chimie biologique et médicale.....	ENSELME
Pathologie chirurgicale	MALLET-GUY
Histologie	NOËL
Pharmacie galénique	REVOL
Médecine Légale et Déontologie.....	BOURRET
Thérapeutique	LEVRAT
Hygiène	SOHIER
Biologie Médicale	JOURDAN
Propédeutique chirurgicale	BERTRAND
Botanique et Cryptogamie	NETIEN

Professeurs titulaires sans chaire

Obstétrique.... BANSSILLON Pharmacie et Pharmacol. DREVON

Professeur (à titre personnel)

Chimie organ. et toxicol. BADINAND

Maitres de conférences — Agrégés

Physique biologique ...	BERGER	Bactériologie	BERTOYE A.
Parasitologie	COUDERT	Physiologie	CHATONNET
Parasitologie.....	ROMAN	Physiologie	CIER
Histologie	TUSQUES	Biochimie médicale	CREYSSEL R.

Agrégés en exercice

Pathologie médicale ...	BRUN	Orthopédie	MARION J.
Pathologie médicale ...	GIRARD M.	Obstétrique	BROCHIER
Pathologie médicale ...	GIRARD P.	Obstétrique	MAGNIN
Pathologie médicale ...	JEUNE	Obstétrique	MATHIEU J.
Pathologie médicale ...	VACHON	Anatomie pathologique.	GUICHARD A.
Pathologie médicale ...	GALY	Anatomie	LATARJET
Pathologie médicale ...	GONIN	Urologie	PERRIN
Pathologie chirurgicale.	BÉRARD	Ophtalmologie	PAUFIQUE
Pathologie chirurgicale.	DESJACQUES	Neuro-chirurgie	LECUIRE
Pathologie chirurgicale.	LABRY	Oto-Rhino-Laryngologie.	MAYOUX
Pathologie chirurgicale.	TRILLAT A.	Dermato-syphiligraphie..	THIERS
Pathologie chirurgicale.	DARGENT	Médecine légale et méde	
Pathologie chirurgicale.	MANSUY	cine du travail.....	ROCHE
Pathologie chirurgicale	GUILLET		

Chargé des Fonctions d'Agrégés

Hygiène..... BENAZET

Examineurs de la Thèse

M. LEULIER, *Président* ;

MM. DREVON, CHAMBON, REVOL, *Assesseurs*.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A TOUS CEUX QUI NOUS SONT CHERS

A NOTRE MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. LEULIER

PROFESSEUR DE PHARMACIE ET PHARMACOLOGIE
PROFESSEUR AGRÉGÉ DU VAL-DE-GRAVE
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

*Après nous avoir accueilli dans son
Laboratoire, il a guidé de ses conseils
éclairés les travaux de notre Thèse
dont il accepte aujourd'hui de pré-
sider le jury. Sa grande bonté et sa
sollicitude nous ont profondément
touché. Nous ne saurions lui expri-
mer en quelques mots toute notre
reconnaissance et notre respectueuse
affection.*

A NOTRE MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR B. DREVON

PROFESSEUR TITULAIRE SANS CHAIRE
PROFESSEUR AGRÉGÉ DU VAL-DE-GRACE

Il a toujours cherché à nous enseigner la rigueur de l'expérimentation et à nous communiquer l'enthousiasme de la recherche. Depuis le début de nos études pharmaceutiques, il nous a donné maints témoignages de son amitié. Il veut bien aujourd'hui juger ce travail qu'il nous a inspiré. Nous sommes fier d'être au nombre de ses élèves et nous le prions de croire à notre reconnaissance et à notre profond attachement.

A NOS JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. CHAMBON

PROFESSEUR DE CHIMIE ORGANIQUE ET TOXICOLOGIE
PHARMACIEN DES HÔPITAUX
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

*Il nous donne encore une nouvelle
preuve de sa bienveillance en accep-
tant d'être notre juge. Nous l'en
remercions très respectueusement.*

MONSIEUR LE PROFESSEUR L. REVOL

PROFESSEUR DE PHARMACIE GALÉNIQUE ET DE MATIÈRE MÉDICALE
PHARMACIEN CHEF DE L'HÔPITAL DÉPARTEMENTAL DU VINATIER

*Nous avons souvent bénéficié de
ses conseils et de son amabilité sou-
riante. Nous prions ce Maître, qui
veut bien nous honorer de son amitié
de trouver ici le témoignage de notre
gratitude et de notre attachement.*

A MONSIEUR LE DOYEN H. HERMANN
PROFESSEUR DE PHYSIOLOGIE
MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

*Il nous a permis d'effectuer notre
expérimentation physiologique dans
son Laboratoire et il nous a toujours
accueilli avec une grande bienveil-
lance. Nous tenons à lui exprimer
notre reconnaissance et notre profond
respect.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. BERGER

*Il nous a ouvert les portes de son
Laboratoire, mettant à notre disposi-
tion un appareillage indispensable à
nos recherches. Nous lui adressons
nos très respectueux remerciements.*

A NOS MAÎTRES ET A NOS CHEFS
DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

En hommage respectueux.

INTRODUCTION

Un brevet récent a signalé la formation de dérivés quinoléiques par « condensation d'une molécule de diacide ou de triacide β alcool avec deux molécules d'une amine aromatique plus ou moins substituée ». A titre d'exemple, est décrite la préparation d'un dérivé de l'hydroxy-1-dihydro-3, 4-quinoléine doué de propriétés antipaludiques : il suffirait de condenser une molécule d'acide citrique avec deux molécules d'aniline.

Cette réaction nous a paru mériter une étude attentive.

La cyclisation, par deshydratation, des anilides qui possèdent en β une fonction se prêtant à condensation sur le noyau aromatique est une méthode générale de synthèse de dérivés quinoléiques.

En 1885, RUGHEIMER et HOFFMANN (55) ont établi qu'il est possible d'obtenir des dérivés quinoléiques à partir d'acides anilidomaloniques substitués en faisant réagir sur ces substances un déshydratant énergique comme le pentachlorure de phosphore. En même temps que la cyclisation se produit une chloruration du noyau benzenique.

COMBES (11) puis ROBERTS et TURNER (53) ont utilisé l'acide sulfurique, dans la même intention.

HEIMANN (28) a réussi la synthèse de dérivés de la dihydroxy-2,4-quinoléine par chauffage des anilides d'esters maloniques en solvant neutre à 250°.

Mais les anilides et aniles permettant d'obtenir cette cyclisation possèdent en β soit un carbonyle, soit un carboxyle estérifié ou amidé et nous n'avons pas trouvé dans la littérature d'exemple de synthèse quinoléique à partir d'acides β alcool.

L'absence de toute étude systématique et le petit nombre de travaux ayant trait aux produits de condensation de

RUGHEIMER et HOFFMANN. *Ber. d. Chem. Ges.*, **17**, 739, (1885).

COMBES. *Bull. Soc. Chim.*, **49**, 89, (1888).

ROBERTS et TURNER. *J. Chem. Soc.*, **131**, 1832, (1927).

HEIMANN. *Thèse Doct. Univ. Dijon*, (1937).

l'aniline avec les acides citrique et aconitique nous ont incité à tenter quelques nouvelles recherches.

TRAVAUX ANTÉRIEURS

Etudiant la constitution de l'acide citrique, PEBAL (47, 48) a observé dès 1852 qu'un chauffage à 140-150°C. déshydrate les citrates d'aniline et conduit aux anilides citriques, principalement au trianilide citrique. Dans les produits de la réaction PEBAL a isolé aussi l'acide citrylanile-carboxylique et le citrylanilanilide qu'il dénomme respectivement acide citranilique et citrobianile.

En chauffant à 150°C. l'acide aconitique en présence d'un excès d'aniline, MICHAEL (43) obtient en 1887 l'aconitylanilanilide décrit deux ans plus tard par SKINNEY et RUHEMANN (57) sous le nom d'aconitobialine. Ces derniers auteurs ont également préparé l'acide aconitylanile-carboxylique, mais les anilides aconitiques n'ont pas été isolés avec certitude des produits de condensation de l'aniline avec l'acide aconitique sous l'effet de la chaleur.

En 1925, NAU et ses collaborateurs (45) décrivent un nouveau mode de préparation de l'acide citrylanile-carboxylique à partir du citrate monoanilique et sa déshydratation en acide aconitylanile-carboxylique à l'aide du pentachlorure de phosphore. Ils ont déterminé les points de fusion de ces dérivés, obtenus pour la première fois cristallisés, et préparé quelques uns de leurs sels.

Enfin, en 1934, DI MENTO (14) met en évidence le rôle de la température dans la préparation des anilides citriques par condensation de l'acide citrique avec un excès d'aniline :

Par un chauffage de 2 à 4 heures à une température comprise entre 120 et 130°C. on obtient le trianilide citrique avec un rendement de 85 à 90 % à côté de faibles quantités de dianilide et de monoanilide citrique. Si la température ne dépasse pas 130°C., il n'y a pas formation de dérivés anilés.

Les propriétés générales des anilides citriques devaient être décrites dans un autre travail qui, à notre connaissance, n'a pas été publié.

Au point de vue pharmacologique, nous n'avons en effet retrouvé qu'une étude, par FEATHERSTONE et VENTRE (19), des

PEBAL. *Ann.*, **82**, 78, (1852). — *Ann.*, **88**, 83, (1856).

MICHAEL. *Chem. Am. J.*, **9**, 192, (1887).

SKINNEY et RUHEMANN. *J. Chem.*, **55**, 235, (1889).

NAU BROWN et BAILEY. *J. Am. Chem. Soc.*, **47**, 2596, (1925).

DI MENTO. *Ann. Chim. Applicata*, **24**, 464 (1934).

FEATHERSTONE et VENTRE. *Proc. of Soc. Exptl. Bio. and Med.*, **62**, 68, (1946).

propriétés analgésiques et antipyrétiques du monoanilide aconitique : le monoanilide aconitique aurait des propriétés comparables à celles de l'acétanilide.

Nous avons pensé qu'il ne serait pas inutile de compléter ces recherches et de réunir dans une même publication les caractères et les propriétés des produits de condensation de l'aniline avec les acides citrique et aconitique.

Voici d'ailleurs le plan que nous avons suivi :

Première Partie

ETUDE CHIMIQUE DES ANILIDES ET ANILES CITRIQUES ET ACONITIQUES

CHAPITRE I. — *Méthodes d'analyse utilisées* (1).

CHAPITRE II. — *Quelques réactions des anilides et aniles citriques et aconitiques* (1).

CHAPITRE III. — *Préparation* :

- 1° Des anilides et aniles citriques.
- 2° Des anilides et aniles aconitiques.

CHAPITRE IV. — *Action des déshydratants* :

- 1° Sur le monoanilide et le dianilide citriques.
- 2° Sur la réaction de condensation de l'aniline avec l'acide citrique.

CHAPITRE V. — *Essai d'interprétation des résultats.*

Seconde Partie

ETUDE DE QUELQUES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES DES ANILIDES ET ANILES CITRIQUES ET ACONITIQUES

CHAPITRE I. — *Action méthémoglobinisante.*

CHAPITRE II. — *Action sur la température corporelle* :

- 1° Action sur l'hyperthermie provoquée.
- 2° Action sur la température normale, activité hypothermisante.

CHAPITRE III. — *Etude particulière du dianilide aconitique.*

CHAPITRE IV. — *Essai d'interprétation des résultats.*

CONCLUSIONS

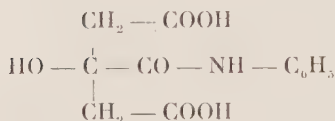
(1) C'est afin d'éviter les répétitions que nous exposons les méthodes d'analyse utilisées et les réactions générales de ces dérivés avant leur préparation.

ANILIDES ET ANILES CITRIQUES

Monoanilide citrique (I)

$C_{12}H_{13}O_6N$ P.M. 267

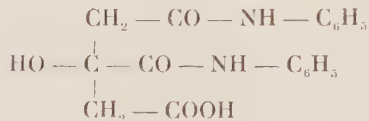
Pentanol₃phénylcarbamyloïque₃



Dianilide citrique (II)

$C_{18}H_{18}O_5N_2$ P.M. 342

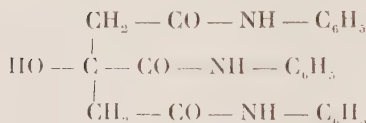
Butanol₂diphénylcarbamyloïque₁



Trianilide citrique (III)

$C_{24}H_{23}O_4N_3$ P.M. 417

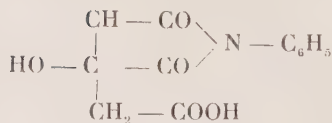
Propanol₂triphénylcarbamyloïque₁₋₂₋₃ (citranylilide)



Acide citrylanile-carboxylique (IV)

$C_{12}H_{11}O_5N$ P.M. 249

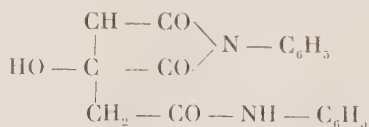
N-phényl dioxo₂₋₃hydroxy₃-éthyloliquepyrrolidine (acide citranilique)



Citrylanilanilide (V)

$C_{18}H_{16}O_4N_2$ P.M. 324

N-phényl dioxo₂₋₃hydroxy₃- (méthylphénylcarbamyloïque) pyrrolidine (citrobianilide)



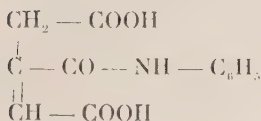
Pour la dénomination officielle de ces dérivés, nous nous sommes conformés aux règles préconisées dans les comptes rendus des dernières Conférences Internationales (notamment la Conférence Internationale de Londres de 1947).

ANILIDES ET ANILES ACONITIQUES

Monoanilide aconitique (VI)

$C_{12}H_{11}O_5N$ P.M. 249

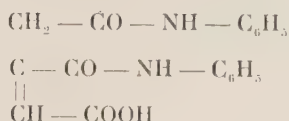
Pentène₂phénylcarbamide₃
dioïque



Dianilide aconitique (VII)

$C_{18}H_{16}O_4N_2$ P.M. 324

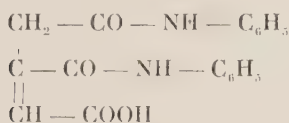
Butène₂diphénylcarbamide₃
oïque₁



Trianilide aconitique (VIII)

$C_{24}H_{21}O_3N_3$ P.M. 399

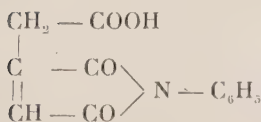
Propène triphénylcarbamide₁ ₂ ₃



Acide aconitylanile-carboxy- lique (IX)

$C_{12}H_9O_4N$ P.M. 231

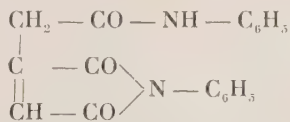
N-phényl dioxo₂₋₃déhydro₃₋₄
éthylloïque₃ pyrrolidine
(acide aconitanile)



Aconitylanilanilide (X)

$C_{18}H_{11}O_3N_2$ P.M. 306

N-phényl dioxo₂₋₃déhydro₃₋₄
(méthyl₃phénylcarbamide)
pyrrolidine (aconitobianile)



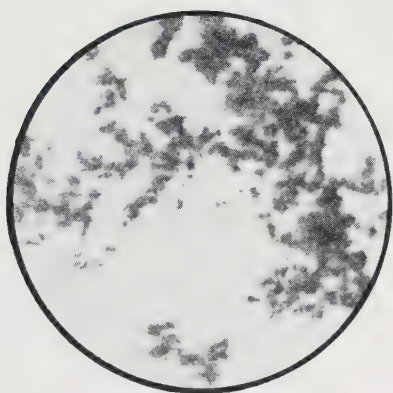
D'après les prescriptions données par V. GRIGNARD (1) la dénomination de (IV) et de (IX) serait la suivante :

(IV) : Dioxo-2-5 (cyclo-aza-1- tetracarbane) hydroxy-3 éthylloïque-3.

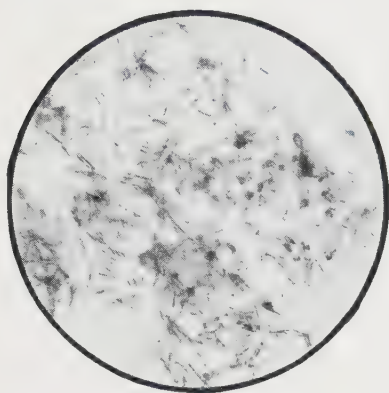
(IX) : Dioxo-2-5 (cyclo-aza-1- tetracarbène-3) éthylloïque-3.

(1) GRIGNARD V. *Traité de Chimie Organique*, t. I, p. 1095. — Masson Ed., Paris, (1935).

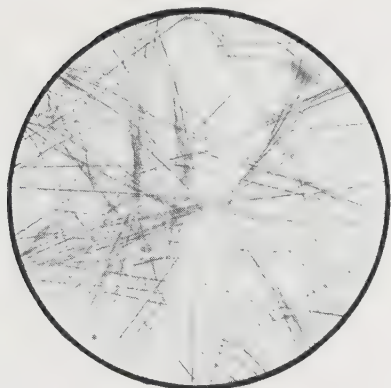
ANILIDES ET ANILES CITRIQUES



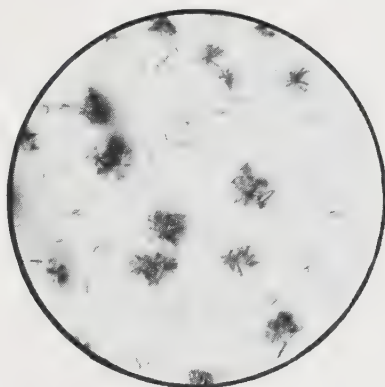
Monoanilide citrique (I)



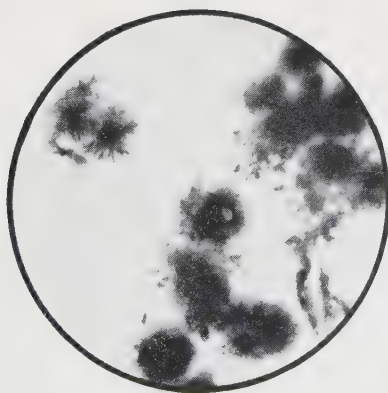
Dianilide citrique (II)



*Trianilide citrique
(III)*

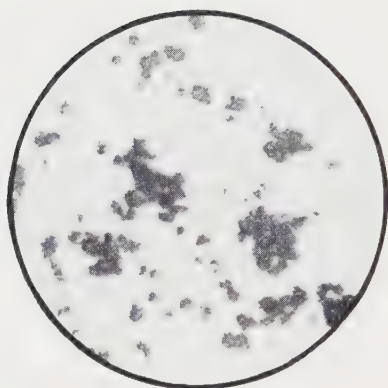


*Acide citrylanile-carboxylique
(IV)*

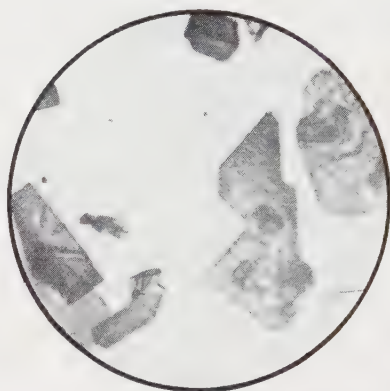


Citrylanilanilide (V)

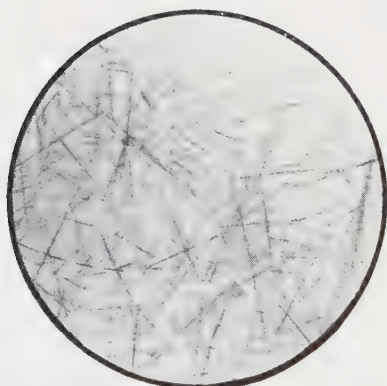
ANILIDES ET ANILES ACONITIQUES



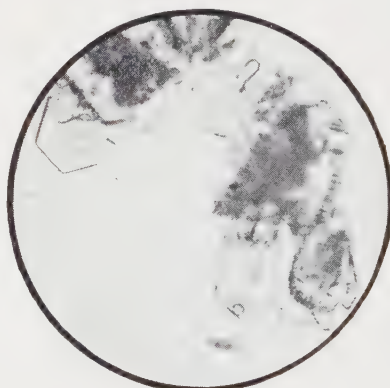
Monoanilide aconitique (VI)



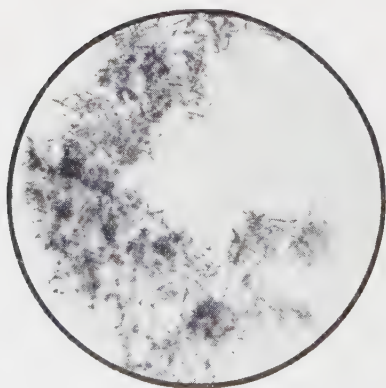
Trianilide aconitique (VIII)



*Dianilide aconitique (trans)
(VII a)*



*Dianilide aconitique (cis)
(VII b)*



*Acide aconitylanile-carboxylique
(IX)*



*Aconitylanilanilide
(X)*

PREMIÈRE PARTIE

Etude chimique
des anilides et aniles citriques
et aconitiques

CHAPITRE PREMIER

Méthodes d'analyse

A. — DÉTERMINATION DES CONSTANTES USUELLES ET DES CARACTÈRES PHYSIQUES

Les produits ont été préalablement purifiés par des cristallisations répétées dans l'eau, l'éthanol ou l'acétate d'éthyle.

a) Point de Fusion.

Nous avons mesuré pour chaque corps, le point de fusion instantané au bloc Maquenne, et, en l'absence de décomposition, le point de fusion sous le microscope par chauffage rapide (5°C. par minute) — Micropoint de fusion — selon la méthode de KÖFLER (32), qui donne des résultats sensiblement identiques à la détermination des points de fusion en tube capillaire.

b) Solubilités.

Nous avons utilisé la méthode par saturation, en préparant à chaud une solution saturée qui est ensuite lentement refroidie à 20°C. et maintenue 12 à 14 heures à cette température. Les concentrations ont été déterminées par évaporation d'un volume connu de solution et pesée du résidu.

KÖFLER. Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische Universitätsverlag WAGNER Innsbrück, (1948).

c) Masses moléculaires.

Nous les avons déterminées par cryométrie en utilisant le camphre comme solvant selon la méthode de RAST (52) :

« Le camphre ayant une constante cryoscopique de 40.000, la détermination ne nécessite qu'un thermomètre au $1/2^{\circ}\text{C}$. Il est évident qu'une bonne solubilité dans le camphre est nécessaire et que la substance étudiée ne doit pas se décomposer à la température de fusion du camphre (178°C .) ni donner de réaction avec celui-ci. »

Nous avons vérifié que nos produits se dissolvaient sans altération dans le camphre à 185°C .

Mode opératoire

Peser exactement 2 à 5 mg de substance puis 20 à 50 mg de camphre dans un petit tube à essai de 5 cm de longueur sur 4mm de diamètre environ. Le tube, scellé à la flamme, est plongé dans un bain d'huile porté à 180, 185°C . Il y a fusion et le mélange devient homogène. En procédant avec précaution il ne se sublime que peu de camphre et l'erreur qui en résulte est négligeable.

Le tube contenant le mélange et un tube témoin rempli de camphre seul, sont accolés au niveau du réservoir d'un thermomètre divisé en degrés ou demi-degrés. Chauffer l'ensemble, thermomètre-tubes, dans un bain d'huile dont on règle la montée de température à $0,5^{\circ}\text{C}$. près quand, dans chaque tube, le dernier cristal est fondu. Laisser ensuite refroidir et recommencer l'opération pour vérifier les chiffres précédents. (Une légère sublimation de camphre nous a fait, de façon générale, obtenir des chiffres un peu supérieurs à la théorie pour les corps expérimentés).

La masse moléculaire, M, se déduit facilement de la loi de RAOULT

$$\Delta t = K C/M$$

dans laquelle K est la constante cryoscopique du camphre (40000), C la quantité de substance dissoute dans un gramme de camphre, et Δt l'abaissement cryoscopique mesuré en degrés.

d) Constantes de dissociation.

Les constantes de dissociation, K, des anilides et aniles qui possèdent un carboxyle libre, ont été mesurées en suivant la neutralisation par la soude de leurs solutions 0,01 N

RAST. *Ber. D. Chem. Ges.*, **55**, 1051, 3727, (1922). Cité par PESEZ et POIRIER : Méthodes et réactions de l'analyse organique, 1, Masson, (1952), 36-37.

à l'aide de la méthode potentiométrique à l'électrode de verre.

Dans le système tampon ainsi réalisé, le pK (cologarithme de K) correspond au point d'inflexion de la courbe de titration, c'est-à-dire, au moment où est introduite la moitié de l'équivalent théorique de soude.

En effet d'après l'équation des systèmes tampons :

$$\text{pH} = \text{pK} + \frac{\text{C sel}}{\text{C acide}},$$
 et pour des concentrations égales en sel et en acide : $\text{pH} = \text{pK}$.

Voici, par exemple, les résultats que nous avons obtenus avec l'acide aconitylanile-carboxylique en solution 0,01 N (0,234 g p. 100 ml).

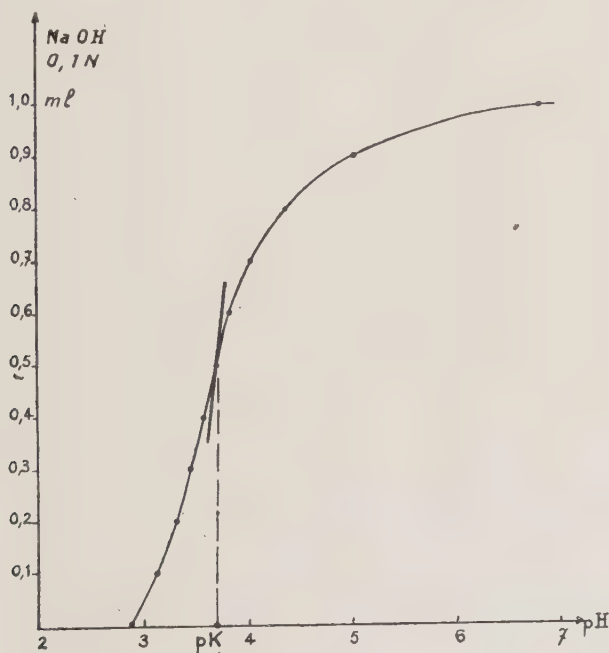


FIG. 1

Courbe de titration de l'Acide aconitylanile-carboxylique.

Nous avons préparé 10 échantillons de 10 ml de solution d'acide aconitylanile-carboxylique contenant respectivement 0,1, 0,2, 0,3...1 ml de soude 0,1 N. La mesure du pH de ces solutions permet de tracer la courbe de neutralisation (figure N° 1).

Nous considérons que, dans nos conditions expérimentales, nous opérons à force ionique nulle et la valeur du pK se déduit sans corrections de la courbe obtenue :

$$pK = 3,70$$

Nous en tirons la valeur de la constante de dissociation de l'acide aconitylanile-carboxylique : $K = 2 \times 10^{-4}$.

Les constantes de dissociation, K_1 et K_2 , du monoanilide citrique et du monoanilide aconitique ont été établies de la même façon à l'aide des courbes de neutralisation.

B. — DOSAGE DES CONSTITUANTS

a) Dosage de l'Azote.

Nous avons dosé l'azote total par la méthode de KJELDAHL. Par cette méthode FLEURY et LEVALTIER (20) ont obtenu une destruction rapide de l'aniliné et de quelques-uns de ses dérivés, avec un rendement en ammoniacque pratiquement théorique.

Nous avons réalisé la minéralisation avec le catalyseur de POE et NADLER (50) :

Oxyde jaune de mercure.....	15 g
Sulfate de cuivre hydraté à OH_2	25 g
Sélénite de Sodium.....	5 g

Ce mélange a été préconisé par DREVON et ROUSSIN (17) pour la kjeldahlisation de quelques alcaloïdes ; utilisé à raison de 200 mg pour 100 mg de substance et 10 ml d'acide sulfurique, il nous a donné d'excellents résultats.

FLEURY et LEVALTIER. *Bull. Soc. Chim.*, **37**, 330, (1925).
POE et NADLER. *Ind. Eng. Chem. Anal.*, **7**, 189, (1935).
DREVON et ROUSSIN. *J. P. C.*, **132**, 18, (1940).

b) Dosage de l'Aniline.

A côté de l'azote total, nous avons systématiquement dosé l'aniline présente dans la molécule d'anilide ou d'anile.

1) DOSAGE BROMOMÉTRIQUE

Principe :

Hydrolyse du dérivé anilidé ou anilé en milieu acide. Entraînement par la vapeur d'eau de l'aniline libérée, en milieu alcalin et dosage bromométrique de l'aniline présente dans le distillat.

Réactifs :

Solution d'acide sulfurique 5 N
Solution de soude à 30 p. 100
Solution de bromure de potassium à 30 p. 100
Solution d'iodure de potassium à 10 p. 100
Solution de bromate de potassium 0,1 N (à 16,70 g/l)
Solution de thiosulfate de sodium 0,1 N
Alcool éthylique à 95°

Mode opératoire

A une quantité déterminée d'anilide ou d'anile (de l'ordre de 10 à 40 mg) ajouter 5 ml d'acide sulfurique 5 N. Faire bouillir au réfrigérant à reflux pendant 30 minutes. Après refroidissement, alcaliniser goutte à goutte avec un excès de soude à 30 p. 100.

Soumettre à un entraînement à la vapeur d'eau (1).

Recueillir environ 200 ml de distillat dans une fiole d'Erlenmeyer de 750 ml contenant 5 ml d'acide sulfurique 5 N.

Ajouter 10 ml de solution de bromure de potassium et 10 ml exactement mesurés de solution 0,1 N de bromate de potassium. Au bout de 2 minutes ajouter 10 ml de solution d'iodure de potassium et une quantité suffisante d'alcool éthylique à 95° pour dissoudre le précipité de tribromoaniline qui s'est formé dans la réaction (environ 200 ml). Attendre 2 minutes et titrer l'iode mis en liberté par la solution 0,1 N de thiosulfate de sodium.

(1) Nous avons utilisé avec avantage pour cet entraînement, l'appareil de PARNAS et WAGNER.

Faire un témoin.

Une molécule d'aniline consomme 6 atomes de brome suivant la réaction :



8 mg de brome, soit 1 ml de solution 0,1 N de thiosulfate de sodium correspondent à 1,55 mg d'aniline.

Remarque :

Bien que les anilides ou aniles fixent directement du brome, le dosage bromométrique rigoureux de l'aniline présente dans la molécule de ces dérivés implique leur hydrolyse totale, hydrolyse qui est réalisée dans nos conditions expérimentales.

D'autre part, toutes les fois où le dosage de l'aniline a été effectué en présence d'un ou plusieurs anilides ou aniles, nous n'avons pas utilisé la méthode bromométrique mais la méthode colorimétrique décrite ci-après :

2) DOSAGE COLORIMÉTRIQUE DE L'ANILINE

Principe :

La fonction amine primaire de l'aniline est diazotée par le nitrite de sodium en milieu acide et le diazoïque obtenu est copulé avec le thymol pour donner un azoïque fortement coloré en jaune.

Réactifs :

Solution d'acide sulfurique N

Solution de nitrite de sodium à 0,2 p. 100 (conservation 1 semaine environ)

Solution de sulfamate d'ammonium à 1 p. 100

Solution alcaline de thymol : Thymol 0,50 g ; Solution de soude N 50 ml (Conservation 1 semaine environ).

Mode opératoire

Amener par dilution la solution (éventuellement neutralisée) à une teneur en aniline comprise entre 0,1 et 1 mg p. 100 ml.

Prélever exactement 5 ml et ajouter successivement 0,5 ml d'acide sulfurique N et 0,5 ml de solution de nitrite de sodium.

Laisser 10 minutes à la glacière. Ajouter 0,5 ml de solution de sulfamate d'ammonium, agiter, attendre 3 minutes et compléter à 10 ml par la solution alcaline de thymol.

Il se développe immédiatement une coloration jaune.

Faire simultanément un témoin et colorimétrer à l'alec-
thophotomètre de MEUNIER, E 43, cuve de 10 mm.

La courbe étalon est représentée par le graphique sui-
vant.

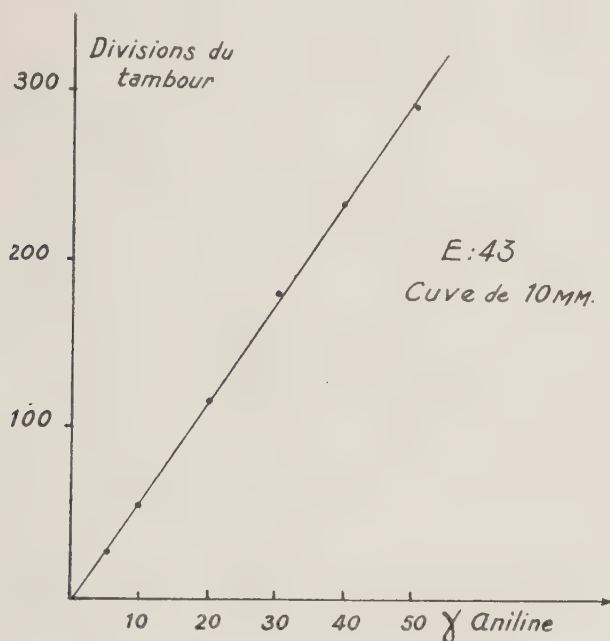


FIG. 2

Dosage colorimétrique de l'aniline.

Remarque :

Au monochlorhydrate de N-Naphtyl-N-diéthyl-propylène-diamine préconisé pour le dosage des sulfamides, nous avons préféré le thymol en milieu alcalin qui donne immédiatement une coloration jaune stable.

La réaction, bien que moins sensible, est plus sûre, car la coloration qui se développe immédiatement est stable pendant plusieurs heures.

CHAPITRE II

Quelques réactions des anilides et aniles citriques et aconitiques

I. — FLUORESCENCE

Les solutions aqueuses ou alcooliques, légèrement alcalines, des anilides citriques et aconitiques présentent en lumière de Wood une fluorescence blanchâtre qui disparaît en milieu acide.

Dans les mêmes conditions, les aniles et anilanilides citriques et aconitiques présentent une fluorescence rouge violacée.

L'examen en lumière de Wood, en milieu légèrement alcalin, est donc un moyen très simple de caractériser rapidement le radical anile dans ces dérivés.

La limite de sensibilité est de l'ordre de quelques microgrammes par millilitre.

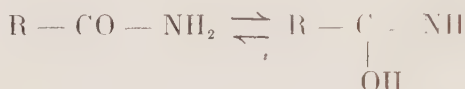
2. — SPECTRES D'ABSORPTION DANS L'ULTRA-VIOLET

Ils ont été déterminés entre 220 et 350 $m\mu$ à l'aide du spectrophotomètre de BECKMAN, les corps étudiés étant en solution aqueuse ou alcoolique suivant leurs solubilités.

a) Les courbes d'absorption de tous ces composés sont très abruptes. Pour un même solvant, elles se superposent aux erreurs d'expérience près. Leur allure générale est identique à celle des spectres de l'acétanilide.

En solution alcoolique, l'absorption commence vers 300 mμ, elle est maximum entre 250 et 240 mμ. En solution aqueuse, les spectres sont décalés vers le visible. Les maxima d'absorption se situent entre 265 et 250 mμ.

Des arguments d'ordre chimique et les spectres d'absorption dans l'ultra-violet ont conduit Mme RAMART-LUCAS et ses élèves (51) à admettre que les amides peuvent se trouver en équilibre sous les deux formes tautomériques, amide et imino-alcool :



Selon les mêmes auteurs, ces deux formes coexistent dans les solutions d'acétanilide : les bandes d'absorption de la forme imino-alcool se trouvent plus près du visible et possèdent généralement l'intensité la plus élevée.

En solution aqueuse, le décalage vers le visible des spectres d'absorption des anilides citriques et aconitiques s'expliquerait donc par un déplacement de l'équilibre en faveur de la forme imino-alcool de ces anilides.

b) Nous avons constaté que la loi de BEER n'était suivie avec aucun des corps étudiés pour des concentrations comprises entre 0,00001 et 0,002 molécules par litre. Ainsi, le dianilide aconitique nous a donné les résultats suivants :

Concentration en moles/l	λ max. en mμ	Log. ε max.
0,0001	264	3,40
0,001	265	2,80
0,002	265	3,25

De nombreux corps organiques donnent des résultats analogues ; UNGNADE, KERR et YOUSE (59) citent notamment certains dérivés de l'anilide, dont l'acétanilide.

Pour toutes ces raisons, ces spectres d'absorption ne sont pas caractéristiques, et nous n'avons pas cru nécessaire de faire figurer leurs représentations graphiques avec les monographies de ces anilides.

RAMART-LUCAS (Mme), LACLOTRE, AGNOTOPOULOS. *C. R. Ac. Sc.*, **185**, 282, (1927).

UNGNADE, KERR et YOUSE. *Science*, **113**, 601, (1951).

3. — HYDROLYSE

A) Hydrolyse acide.

Tous ces dérivés sont facilement hydrolysés à la température d'ébullition par les acides minéraux — sulfurique, chlorhydrique ou nitrique — en solutions concentrées ou diluées au dixième.

Nous avons toujours constaté une hydrolyse totale après ébullition sous réfrigérant à reflux pendant 30 minutes, pour des concentrations 0,002 M d'anilide ou d'anile dans l'acide sulfurique 5 N.

L'aniline a été identifiée dans ces solutions par formation avec l'eau de brome de tribromoaniline insoluble (P.F. 122° C.) et par ses réactions d'oxydation avec l'hypochlorite et l'hypobromite de sodium en milieu alcalin.

L'acide citrique a été identifié par la réaction de DENIGES (13). L'identification de l'acide aconitique nécessite son extraction et sa purification à l'état d'aconitate de Baryum selon un procédé que nous décrivons ultérieurement (voir page 68).

L'acide acétique pur dissout facilement à chaud tous ces dérivés, sans les hydrolyser. Les solutions acétiques se colorent rapidement en jaune, puis en brun, mais ne contiennent pas de sels d'aniline même après plusieurs semaines.

B) Hydrolyse alcaline.

a) HYDROLYSE PAR LA SOUDE ET LA POTASSE :

L'hydrolyse par la soude ou la potasse en solutions aqueuses ou alcooliques est moins régulière que l'hydrolyse en milieu acide et varie très sensiblement suivant l'anilide.

C'est ce que nous avons constaté en déterminant les quantités d'aniline libérées des solutions 0,01 M d'anilides dans la soude 2,5 N (10 p. 100) après 30 minutes d'ébulli-

tion sous réfrigérant à reflux (dosage colorimétrique). Voici nos résultats :

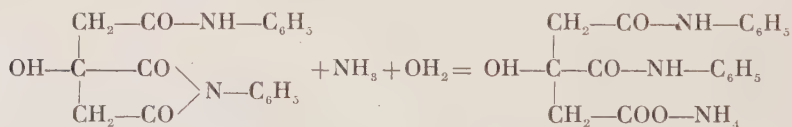
DÉNOMINATION	Quantité en mg	Aniline libérée		Anilide non ou anile non hydrolysé en p. 100
		Trouvé en mg	en p. 100 de la quantité théorique	
Trianilide citrique	41,7	6,2	22,1	77,9
Dianilide citrique	34,2	12,75	68,5	31,5
Monoanilide citrique	26,7	6,9	73,9	26,1
Acide citrylanile-carboxy- lique	24,9	6,65	71,4	28,6
Citrylanililide	32,4	13,8	74,2	25,8
Trianilide aconitique	39,9	12,9	45,8	54,2
Dianilide aconitique	32,4	16,5	88,5	11,5
Monoanilide aconitique	24,9	8,5	91,7	8,3
Acide aconitylanile-carboxy- lique	23,1	9,0	96,4	3,6
Aconitylanililide	30,6	16,4	88,0	12,0

b) HYDROLYSE AMMONIACALE :

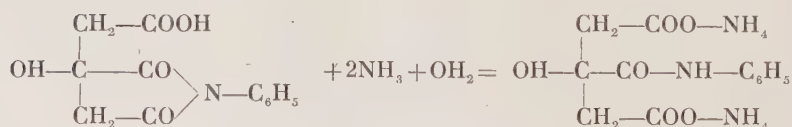
L'hydrolyse des dérivés citro-anilés peut, dans certains cas, se borner à l'ouverture du cycle phénylimide avec formation d'anilides simples.

C'est ainsi que le citrylanililide et l'acide citrylanile-carboxylique se dissolvent au bain-marie bouillant dans l'ammoniaque en donnant les sels ammoniacaux des dianilide et monoanilide citriques.

Même à l'ébullition, *il n'y a pas de libération d'aniline* et la réaction, quantitative, peut s'écrire :



et



Un excès d'acide acétique libère de leurs sels les monoanilide et dianilide citriques que nous avons isolés et carac-

lérisés par leurs constantes physiques. Nous avons d'ailleurs utilisé par la suite ces réactions pour leur préparation (voir page 43).

D'après SKINNEY et RUHEMANN (57), l'action de l'ammoniaque à l'ébullition sur l'aconitylanilide conduirait à l'acide aconitylanile-carboxylique avec libération concomitante d'aniline.

Reprenant l'étude de cette réaction nous n'avons pas obtenu les mêmes résultats :

5 g d'aconitylanilide ont été dissous dans 100 ml d'ammoniaque au tiers, et la solution portée à l'ébullition sous réfrigérant à reflux pendant 30 minutes.

La quantité d'aniline libérée dans ces conditions a été dosée colorimétriquement ; elle est de 0,139 g ce qui correspond à 0,091 molécule d'aniline par molécule d'aconitylanilide.

La solution ammoniacale refroidie, est acidifiée par un excès d'acide acétique. Il se produit un précipité blanc abondant, qui, essoré et séché dans le vide sulfurique, est épuisé successivement par l'éther éthylique et par l'eau bouillante.

a) L'évaporation de la solution éthérée donne de fines aiguilles fondant à 189° C., peu solubles dans l'eau, solubles dans les solutions alcalines qui se colorent en jaune de façon fugace et présentent une fluorescence rouge violacée en lumière de Wood.

Ces caractères sont ceux de l'acide aconitylanile-carboxylique dont la présence a été confirmée par le dosage bromométrique de l'aniline existant dans la molécule :

Matière : 0,024 g	Brome fixé : 0,0496 g
Trouvé, Aniline p. 100 : 40,0	
Calculé pour $C_{12}H_9O_4N = 231$	Aniline p. 100 : 40,2

b) De la solution aqueuse refroidie, il se dépose un abondant précipité cristallin. Séché à l'étude à 100°C., il fond à 202° C.

Il est peu soluble dans l'eau, soluble sans coloration dans les solutions alcalines qui présentent une fluorescence blanchâtre en lumière de Wood. Ces caractères sont ceux du dianilide aconitique. Le dosage bromométrique de l'aniline présente dans la molécule nous a donné les résultats suivants :

Matière : 0,031 g	Brome fixé : 0,0912 g
Trouvé, Aniline p. 100 : 56,0	
Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2 = 324$	Aniline p. 100 : 57,4

Comme les auteurs cités, nous avons donc constaté que la dissolution de l'aconitylanililide dans l'ammoniaque s'accompagne de la libération d'aniline, mais en quantités très faibles. La formation d'acide aconitylanile-carboxylique est insignifiante par rapport au dianilide qui constitue le produit principal de la réaction.

Il est donc permis de conclure que l'ammoniaque est capable d'ouvrir le cycle phénylimide des dérivés anilés de l'acide aconitique.

Dans certaines conditions même, l'ouverture de ce cycle est plus aisée à réaliser sur les aniles aconitiques que sur les aniles citriques. C'est ce que nous avons mis en évidence en comparant l'action du carbonate neutre de sodium sur ces dérivés.

c) HYDROLYSE PAR LE CARBONATE NEUTRE DE SODIUM :

Les solutions aqueuses à 10 p. 100 (ou plus concentrées) de carbonate neutre de sodium sont sans action, même à la température d'ébullition, sur les dérivés citro-anilés.

Au contraire, dès 80° C. nous avons observé que l'aconitylanililide se dissout dans ces solutions sans libération d'aniline, avec dégagement d'anhydride carbonique, et formation de dianilide.

En effet, après action de la solution alcaline, on précipite par l'acide acétique ou chlorhydrique. Le précipité, cristallisé en aiguilles blanc-nacrées fond à 202° C. et présente tous les caractères du dianilide aconitique :

a) Le dosage bromométrique de l'aniline nous a donné :

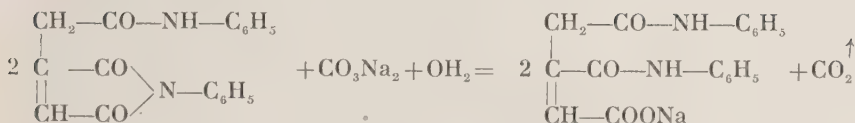
Matière : 0,024 g	Brome fixé : 0,0688 g
Trouvé, Aniline p. 100 : 56,5	
Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2 = 324$	Aniline p. 100 : 57,4

b) Il donne un sel de baryum insoluble dans l'eau dont la teneur en baryum est la suivante :

Matière : 0,337 g	SO_4Ba : 0,111 g
Trouvé Ba p. 100 : 19,4	
Calculé pour $(C_{18}H_{16}O_4N_2)_2Ba$	Ba p. 100 : 20,0

Les solutions aqueuses de carbonate de sodium hydrolysent donc à chaud le cycle phénylimide de l'aconitylanililide avec formation d'une fonction phénylamide.

La réaction peut s'écrire :



Le carbonate neutre de sodium hydrolyse de même l'acide aconitylanile-carboxylique en donnant le sel disodique du monoanilide aconitique. Dans les deux cas la réaction est quantitative en présence d'un excès de carbonate de sodium et nous l'avons utilisée pour la préparation du dianilide et du monoanilide aconitiques (voir pp. 51 et 59).

4. — DÉRIVÉS BROMÉS

L'action du brome sur les anilides citriques et aconitiques dissous dans l'acide acétique pur conduit à un mélange de dérivés bromés. L'analyse en a été réalisée après hydrolyse acide et séparation des dérivés bromés de l'aniline selon la méthode décrite par JONES et ORTON (30) pour l'étude des dérivés halogénés de l'acétanilide.

Voici le mode opératoire que nous avons suivi avec le dianilide citrique :

5 g de dianilide citrique ont été dissous dans 100 ml d'acide acétique contenant 10 p. 100 de brome. Après 24 heures, la solution est diluée avec 500 ml d'eau. Il se forme un abondant précipité qui a été recueilli par filtration et dissous dans 100 ml d'acide sulfurique 5 N. La solution est portée à l'ébullition sous réfrigérant à reflux pendant 30 minutes. Après alcalinisation par un excès de soude, elle est épuisée par l'éther éthylique. Le résidu d'évaporation de la solution étherée est constitué par les dérivés bromés de l'aniline. Nous les avons dissous dans 50 ml d'acide sulfurique à 3 p. 100 et la solution a été soumise à un entraînement à la vapeur d'eau, la concentration en acide demeurant constante.

a) A cette concentration en acide sulfurique, les dérivés bromés de l'aniline sont rapidement entraînés par la vapeur d'eau, exceptée la parabromaniline qui demeure à l'état de sulfate.

Nous l'avons extraite de la solution, alcalinisée par la soude, grâce à sa solubilité dans l'éther éthylique. Le résidu d'évaporation de la solution étherée représente 2,30 g de longues aiguilles incolores fondant à 65-66° C. Ce point de fusion est celui de la parabromaniline.

b) Insolubles dans l'eau, les dérivés bromés, entraînés par la vapeur d'eau sont isolés par filtration et dissous par le minimum d'acide sulfurique à 4 p. 100. La solution est refroidie à 0° C. L'acide sulfurique est neutralisé par la soude à 10 p. 100 : les dérivés dibromés cristallisent immédiatement. Nous recueillons ainsi 0,87 g d'un dérivé cristallisé en aiguilles fondant à 80°C. point de fusion de la 2-4-dibromaniline.

c) La solution qui contient encore d'orthobromaniline est alors épuisée par l'éther éthylique : la solution étherée laisse déposer par évaporation 0,98 g d'orthobromaniline fondant à 30° C.

En résumé, la bromuration de 5 g de dianilide citrique en milieu acétique nous a permis d'isoler après hydrolyse acide des produits formés :

2,30 g de parabromaniline.
0,98 g d'orthobromaniline.
0,87 g de 2-4 dibromaniline.

De ces chiffres, il ressort que l'aniline existant dans la molécule du dianilide citrique a été bromée dans nos conditions d'expérience, pour 46 p. 100 à l'état de parabromaniline, 22 p. 100 à l'état d'orthobromaniline et 12 p. 100 à l'état de 2-4 dibromaniline. 20 p. 100 de l'aniline n'ont pas été retrouvés sous forme de dérivés bromés.

En milieu acétique, les autres anilides citriques et les anilides aconitiques nous ont donné des résultats sensiblement identiques.

En utilisant l'eau de brome sur ces dérivés en solution aqueuse, on observe un précipité immédiat. L'hydrolyse acide des précipités nous a permis d'isoler la 2-4-6 tribromoaniline fondant à 121° C. à côté de faibles quantités de parabromaniline. La tribromoaniline ne se forme pas en solution acétique.

5. — EXISTENCE D'UN HÉTÉROCYCLE PENTAGONAL DANS LES ANILES CITRIQUES ET ACONITIQUES

Ces dérivés donnent par distillation sèche en présence de poudre de zinc (parties égales) des liquides huileux colorés en jaune, solubles dans l'éther et l'éthanol, qui présentent, tous, les réactions du noyau pyrrol :

a) Des copeaux de pin imbibés d'acide chlorhydrique fumant se colorent en rouge foncé.

b) Les solutions alcooliques donnent à froid avec le réactif d'Erlich (solution chlorhydrique de paradiméthylaminobenzaldéhyde) une intense coloration rouge.

c) Les solutions éthérées se colorent en rouge par un léger chauffage avec un cristal de chloranile (tétrachloroquinone).

6. — OBTENTION DE SELS

a) SELS MÉTALLIQUES :

Les anilides et aniles qui possèdent un ou plusieurs carboxyles libres donnent des sels par combinaison avec les hydroxydes métalliques.

Les sels des métaux lourds, plomb, argent, baryum..., les sels de mercure exceptés, précipitent tous ces dérivés de leurs solutions aqueuses à l'état de sels de plomb, argent, baryum. Les sels d'argent *se décomposent rapidement à une température supérieure à 50-60° C. et sont sensibles à la lumière.*

Ils cristallisent facilement en lamelles ou en petits prismes légèrement colorés en jaune. Les teneurs en argent ont été déterminées par la méthode de Charpentier-Volhard.

Les sels de baryum n'ont pu être obtenus cristallisés ; ils retiennent tous une ou plusieurs molécules d'eau et ont été séchés à l'étuve à 120° C. jusqu'à poids constant. Le

baryum a été dosé par gravimétrie à l'état de sulfate de baryum.

b) SELS D'ANILINE :

L'aniline donne avec les anilides et les aniles acides en solutions aqueuses ou alcooliques des sels bien cristallisés.

Un chauffage prolongé à 120-130° C. les déshydrate en anilides. C'est ainsi, en particulier, que nous avons pu obtenir le trianilide aconitique cristallisé à partir du sel d'aniline du dianilide aconitique.

7. — RÉACTION COLORÉE AU XANTHYDROL

En 1951, LANG (33) a décrit une réaction colorée donnée par de nombreuses bases azotées, aromatiques ou hétérocycliques, avec le xanthydrol en solution à 1 p. 100. dans l'acide acétique pur.

Le mode opératoire est le suivant :

Dissoudre quelques milligrammes de substance dans 2 ml de solution acétique de xanthydrol à 1 p. 100. Porter au bain-marie bouillant, à l'obscurité pendant 30 minutes et refroidir rapidement sous un courant d'eau froide.

Le milieu est coloré en vert avec la naphtylamine, en violet avec l'indol, en bleu avec la pyridine. La coloration est stable pendant plusieurs heures.

Tous les dérivés que nous avons préparés, donnent avec ce réactif, une intense coloration bleue qui présente un maximum d'absorption vers 700 m μ .

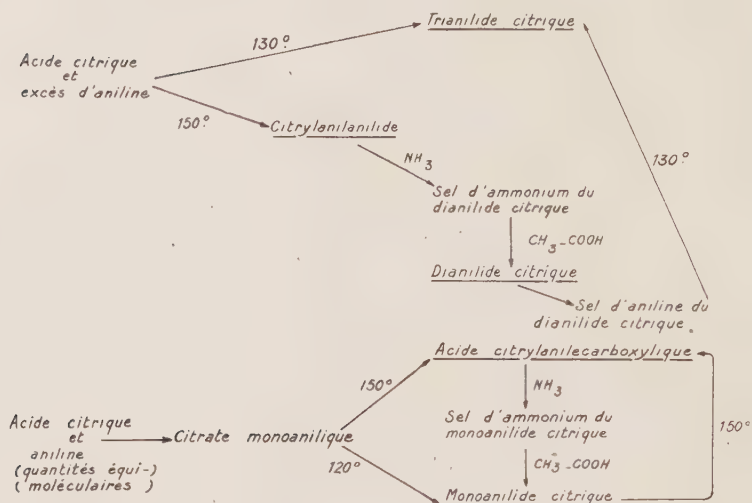
La coloration est inhibée par les solvants polaires, eau, éthanol, mais persiste lorsqu'on dilue par des solvants organiques comme le benzène.

Sensibilité :

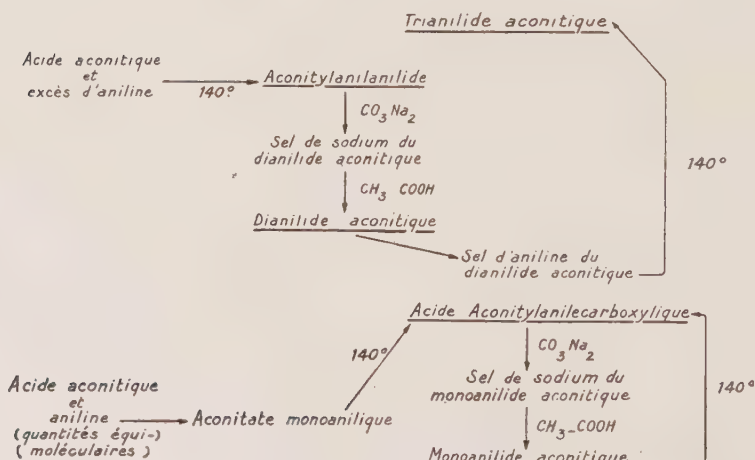
La coloration est encore très nette avec 0,1 mg d'anilide, mais la réaction ne suit pas la loi de Beer et ne permet pas une détermination quantitative facile.

LANG (33) a trouvé que l'aniline donnait « une légère coloration bleue », mais pour des quantités de l'ordre du milligramme, ce corps ne donne pratiquement aucune coloration. La sensibilité de la réaction est très augmentée pour tous les anilides et aniles que nous avons étudiés.

SCHEMAS DES PRÉPARATIONS DES ANILIDES ET ANILES CITRIQUES



SCHEMAS DES PRÉPARATIONS DES ANILIDES ET ANILES ACONITIQUES



CHAPITRE III

Préparation et propriétés des anilides et aniles citriques et aconitiques

* D'après les auteurs cités, tous ces dérivés s'obtiennent par chauffage, entre 120 et 150°C. des acides citriques et aconitique avec un excès ou des quantités calculées d'aniline.

Ce procédé très simple ne nous a permis de préparer avec d'excellents rendements que le citryl et aconitylanilides et le trianilide citrique. Les autres anilides ont été obtenus avec des rendements satisfaisants à l'aide de réactions particulières, et certains, à partir du citrylanilide, ou de l'aconitylanilide, ce qui explique l'ordre que nous avons adopté pour leur étude.

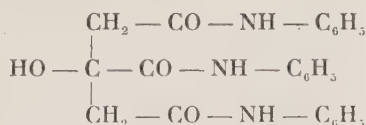
Les schémas simplifiés ci-contre résument les relations de formation de tous les dérivés que nous avons obtenus.

I. — PRÉPARATION ET PROPRIÉTÉS DES ANILIDES ET ANILES CITRIQUES

1) Trianilide citrique (III)



P.M. : 417



A) PRÉPARATION

PEBAL (47) a obtenu le trianilide citrique par chauffage prolongé à 140, 150°C. d'un mélange d'acide citrique et d'aniline en excès.

PEBAL, *Ann.*, **82**, 78, (1852).

Opérant dans ces conditions, nous avons chauffé au bain de sable un mélange de 42 g d'acide citrique monohydraté, finement pulvérisé, et de 56 g d'aniline purifiée. Le chauffage provoque dès 120°C. le départ de vapeur d'eau et d'une petite quantité d'aniline. Au bout de 2 heures à 140-150°C. tout dégagement cesse et, après refroidissement, il reste une masse résineuse jaune.

Le produit brut, pulvérisé, est lavé à l'eau chaude pour éliminer les anilides acides solubles, puis dissous dans l'éthanol à 95° bouillant.

Après un repos de 12 heures à la glacière, il s'est déposé des aiguilles blanc-nacrées de trianilide citrique légèrement souillées de citrylanilanilide qui, on le verra plus loin, est le produit le plus abondant.

Ces cristaux sont lavés avec une solution bouillante d'ammoniaque à 2 p. 100 qui dissout le citrylanilanilide. Après une nouvelle cristallisation dans l'éthanol on arrive au trianilide citrique parfaitement pur. Rendement : 18,2 g (22 p. 100).

En opérant entre 120 et 130°C., et avec un large excès d'aniline, nous avons constaté, comme l'indique DI MENTO (14), qu'il n'y a pas formation de citrylanilanilide et que le rendement en trianilide citrique est considérablement augmenté :

Un mélange de 50 g d'aniline fraîchement distillée et de 30 g d'acide citrique pulvérisé est chauffé à 60-70°C. La température est progressivement élevée et maintenue à 120-130°C. pendant 2 à 3 heures. Le produit de la réaction, pulvérisé, est mis à digérer au bain-marie bouillant pendant 30 minutes avec 500 ml de solution ammoniacale à 2 p. 100 pour solubiliser les anilides acides. Le résidu est cristallisé dans l'éthanol à 95°, lavé à l'éther éthylique et séché à l'étuve à 100°C. pendant 2 heures.

Rendement : 52 g (88 p. 100).

B) PROPRIÉTÉS

Longues aiguilles cristallines (photo N° III) fondant à 198-200°C. (micropoint de fusion 201°C.), le trianilide citrique est pratiquement insoluble dans l'eau et l'éther éthylique, soluble dans l'acétate d'éthyle et dans l'éthanol à 95° à l'ébullition.

Il cristallise facilement de ces solutions par refroidissement.

Sa solubilité dans l'éthanol à 95° est de 0,9 g p. 100 ml à 20°C.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,00428 g Camphre : 0,052 Δt : 7,5°C
 Poids moléculaire trouvé : 438
 Poids moléculaire calculé pour $C_{24}H_{23}O_4N_3$: 417

Spectre Infra-Rouge (1) :

Le spectre obtenu présente 4 maximum d'absorption entre 5 et 12 μ , respectivement à 11, 10,5, 8,45, et de 6,9 à 6,3 μ zone dans laquelle l'absorption est la plus intense.

Les trois points situés à 6,3, 6,6 et 6,9 μ doivent correspondre d'après WILLIAMS (62) à trois groupements amides N substitués.

Les autres maximums sont d'une amplitude trop faible pour être interprétés avec certitude. Cependant on peut admettre que le maximum observé à 8,45 μ correspond aux cycles benzéniques disubstitués en 1-4.

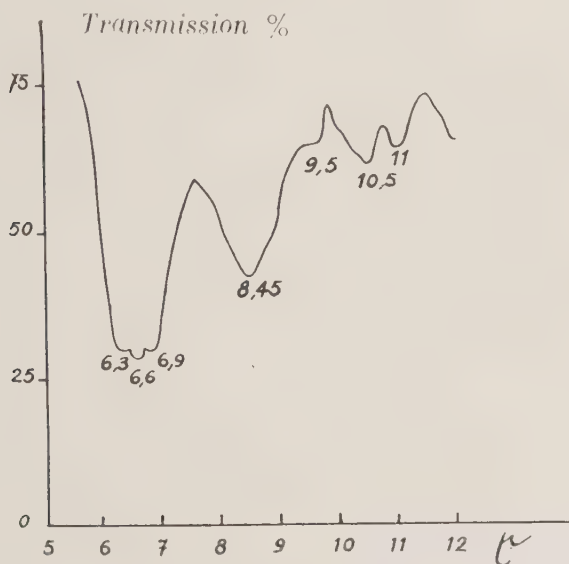


FIG. 3

Spectre infra-rouge du trianilide citrique.

Dosage de l'azole :

Matière : 0,188 g
 Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 13,60 ml
 Trouvé N p. 100 : 10,12
 Calculé pour $C_{24}H_{23}O_4N_3$ = 417 g N p. 100 : 10,08

WILLIAMS. *Rev. Sci. Instrum.*, **19**, 135, (1948).

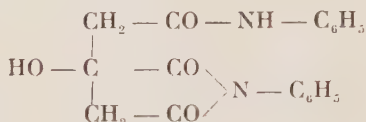
(1) Nous tenons à remercier ici M. le Pharmacien Lieutenant Douzou, Chef du Laboratoire de Physique de l'Inspection des Substances, qui a bien voulu se charger d'établir ces spectres infra-rouges.

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,0122 g Brome fixé : 0,0408 g
 Trouvé, Aniline p. 100 : 64,80
 Calculé pour $C_{24}H_{23}O_4N_3 = 417$ g Aniline p. 100 : 66,3

2) Citrylanilanilide (V)

$C_{18}H_{16}O_4N_2$
 P.M. : 324



A) PRÉPARATION

Le chauffage à 140-150°C. de l'acide citrique avec un excès d'aniline conduit surtout au citrylanilanilide.

En effet dans la préparation précédente, on peut l'isoler du trianilide citrique grâce à sa très grande solubilité dans l'éthanol à 95°.

La solution alcoolique recueillie après séparation du trianilide citrique est évaporée au bain-marie. Le résidu est repris par de l'alcool à 95° refroidi à 0°C. dans lequel, seul, le citrylanilanilide est facilement soluble. Après concentration, le produit cristallise à la température du laboratoire. Pour une quantité initiale de 42 g d'acide citrique, il est possible d'arriver à un total de 46 g de longues aiguilles prismatiques incolores.

Ces cristaux retiennent du solvant :

(Chauffés vers 100°C. ils se ramollissent, fondent à 104°C. (Bloc) et émettent des vapeurs. Ces vapeurs ont été recueillies dans quelques millilitres d'eau, après entraînement par un courant d'air chauffé vers 100°C. (1). La présence d'éthanol a été mise en évidence par la réduction de la solution nitrochromique et la réaction de l'iodoforme.

Après 6 heures à l'étuve à 100°C., la perte de poids pour une prise d'essai de 0,104 g est de 0,013 g, soit 12,5 p. 100. La perte de poids calculée pour une molécule d'alcool de cristallisation est de 12,4 p. 100 ; les cristaux isolés sont donc du citrylanilanilide cristallisé avec une molécule d'alcool.

Dans ces conditions, le rendement en citrylanilanilide pur est de 62 p. 100, soit 40 g.

(1) Nous avons utilisé dans ce but l'appareil à microdosage de l'alcool dans le sang décrit par B. DREYON : *Lyon Pharmaceutique*, N°s 3 et 4, p. 1, (1946).

Les cristaux primitifs laissés à l'air libre, perdent leur alcool de cristallisation en quelques semaines, mais beaucoup plus rapidement dans le vide sulfurique.

B) PROPRIÉTÉS

Cristallisé en fines aiguilles souvent réunies en rosaces (photo N° V) et légèrement colorées en jaune, le citrylanililide fond à 182°C. en se décomposant. Insoluble dans l'eau et l'éther éthylique, il est très soluble dans l'acétate d'éthyle et dans l'éthanol.

Sa solubilité dans l'alcool à 95° est de 18,7 g p. 100 ml à 20°C.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,0047 g Camphre : 0,0495 g Δt : 11°C
 Poids moléculaire trouvé : 345
 Poids moléculaire calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$: 324

Dosage de l'azote :

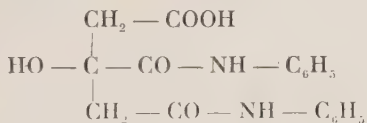
Matière : 0,103 g
 Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 6,35 ml
 Trouvé N p. 100 : 8,63
 Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$ = 324 N p. 100 : 8,64

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,015 g Brome fixé : 0,044 g
 Trouvé, Aniline p. 100 : 56,80
 Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$ = 324 Aniline p. 100 : 57,28

3) Dianilide citrique (II)

$C_{18}H_{18}O_5N_2$
 P.M. : 342



A) PRÉPARATION

Le chauffage d'une molécule d'acide citrique avec deux molécules d'aniline n'a pas permis de préparer directement le dianilide citrique avec un rendement satisfaisant :

Entre 120-130°C., il se forme un mélange des trois anilides citriques ; de ce mélange, on peut isoler de 2 à 4 p. 100 de dianilide citrique.

Entre 140-150°C., il se produit principalement du citrylanililide.

Nous avons utilisé l'action de l'ammoniaque sur ce dernier pour obtenir le dianilide citrique avec un rendement

presque théorique : 20 grammes de citrylanilide sont dissous à l'ébullition dans 250 ml d'ammoniaque au tiers. Après refroidissement, le dianilide citrique est précipité par un excès d'acide acétique. Le précipité est lavé à l'eau distillée froide jusqu'à élimination complète des sels ammoniacaux. Séché à 100°C., il pèse 19,5 g (Rendement 92 p. 100).

Nous l'avons obtenu cristallisé en fines aiguilles soyeuses incolores (photo N° II) de sa solution dans l'alcool à 95°.

B) PROPRIÉTÉS

Aiguilles fondant à 181°C. au bloc Maquenne (micro-point de fusion 179°C.), le dianilide citrique est soluble dans l'éthanol et l'acétate d'éthyle, pratiquement insoluble dans l'éther éthylique. Sa solubilité dans l'eau augmente rapidement avec la température : à 20°C. elle est de 0,37 g p. 100 ml.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,00447 g Camphre : 0,0475 g Δt : 10,5°C
Poids moléculaire trouvé : 358
Poids moléculaire calculé pour $C_{18}H_{18}O_5N_2$: 342

Constante de dissociation :

Nous avons trouvé $pK = 5,6$ et $K = 2,5 \times 10^{-6}$.

Dosage de l'acidité totale :

La solution aqueuse de dianilide citrique est acide au rouge de méthyle et neutre à l'hélianthine. Le dosage de l'acidité totale par la solution 0,1 N de soude en présence de phénolphthaléine nous a donné :

Matière : 0,200 g
Solution 0,1 N de soude neutralisée : 5,80 ml
Trouvé, NaOH p. 100 : 11,6
Calculé pour $C_{18}H_{18}O_5N_2$ NaOH p. 100 : 11,7

Dosage de l'azole :

Matière : 0,145 g
Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 8,5 ml
Trouvé N p. 100 : 8,20
Calculé pour $C_{18}H_{18}O_5N_2$ N p. 100 : 8,18

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,020 g Brome fixé : 0,0536 g
Trouvé, aniline p. 100 : 51,95
Calculé pour $C_{18}H_{18}O_5N_2$ Aniline p. 100 : 54,39

Obtention de sels :

Nous avons préparé les sels d'argent, de baryum et d'aniline du dianilide citrique.

a) *Sel d'argent :*

Il cristallise en prismes courts, légèrement colorés en jaune.

Le dosage de l'argent nous a donné les résultats suivants :

Matière : 0,217 g

Solution de thiocyanate de potassium 0,1 N utilisée : 5,10 ml

Trouvé Ag p. 100 : 25,3

Calculé pour $C_{18}H_{17}O_5N_2Ag$ Ag p. 100 : 24,05

b) *Sel de baryum :*

Matière : 0,407 g SO_4Ba : 0,120 g

Trouvé Ba p. 100 : 17,3

Calculé pour $(C_{18}H_{17}O_5N_2)_2Ba$ Ba p. 100 : 16,7

c) *Sel d'aniline :*

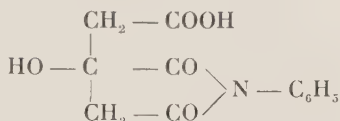
Il cristallise en lamelles fondant à 168°C.

Chauffé à 125°C. pendant 6 heures, il est transformé en trianilide citrique fondant à 200°C.

4) **Acide citryl anile-carboxylique (IV)**

$C_{12}H_{11}O_5N$

P.M. : 249



A) PRÉPARATION

Nous avons utilisé la méthode préconisée par NAU (45) qui donne de bons résultats :

« 96 g. d'acide citrique sont dissous dans 350 ml d'alcool et additionnés de 46,5 g. d'aniline. Après un repos de 3 heures on distille l'alcool dans le vide ; on obtient un produit généralement cristallin : le citrate monoanilique.

On le chauffe ensuite à 150°C. tant qu'il se produit des vapeurs (environ 2 heures). Le produit fondu est alors dissous dans le minimum d'acide chlorhydrique au tiers bouillant. De la solution filtrée se sépare une huile qui cristallise par agitation après maintien 24 heures à la glacière.

On recristallise dans l'eau distillée ».

A partir des mêmes quantités d'acide citrique et d'aniline, nous avons obtenu 87 g d'acide citrylanile-carboxylique cristallisé, soit un rendement de 76 p. 100.

Les eaux mères contiennent encore une quantité assez importante d'acide citrylanile-carboxylique qui ne cristallise pas au cours de l'évaporation de la solution.

B) PROPRIÉTÉS

Petits prismes souvent accolés en étoiles (photo N° IV) fondant à 185°C. (micropoint de fusion 182°C.) l'acide citrylanile-carboxylique est soluble dans l'eau (5,20 g p. 100 ml à 20°C.), dans l'alcool à 95° et l'acétate d'éthyle, peu soluble dans l'éther éthylique, insoluble dans le benzène et les autres solvants organiques.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,00395 g Camphre : 0,042 g Δt : 15,5°C
 Poids moléculaire trouvé : 242
 Poids moléculaire calculé pour $C_{12}H_{11}O_5N$: 249

Constante de dissociation :

Trouvé : $pK = 5,45$ d'où $K = 3,5 \times 10^{-6}$

Dosage de l'acidité totale :

La solution aqueuse d'acide citrylanile-carboxylique est acide au rouge de méthyle et neutre à l'hélianthine. L'acidité totale a été dosée par la solution 0,1 N de soude en présence de phénolphtaléine :

Matière : 0,200 g Solution 0,1 N de soude : 7,95 ml
 Trouvé NaOH p. 100 : 15,9
 Calculé pour $C_{12}H_{11}O_5N$ NaOH p. 100 : 16,06

Dosage de l'azote :

Matière : 0,1775 g
 Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 7,10 ml
 Trouvé, N p. 100 : 5,60
 Calculé pour $C_{12}H_{11}O_5N$ N p. 100 : 5,62

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,027 g Brome fixé : 0,0544 g
 Trouvé, aniline p. 100 : 39,4
 Calculé pour $C_{12}H_{11}O_5N$ Aniline p. 100 : 37,8

Obtention de sels :

a) Sel d'ammonium :

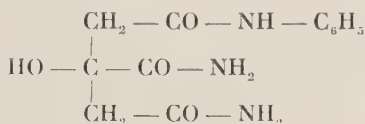
L'acide citrylanile-carboxylique se dissout à froid dans l'ammoniaque en donnant un sel soluble.

Ce sel est partiellement transformé à l'ébullition en présence d'un excès d'ammoniaque et conduit au sel diammonique du monoanilide citrique.

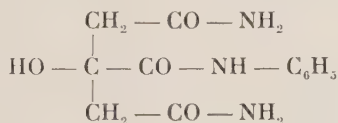
En milieu alcoolique ammoniacal, NAU et ses collaborateurs (45) ont observé que l'acide citrylanile-carboxylique se transformait à l'ébullition à reflux pendant 2 heures en diamidomonoanilide citrique, $C_{12}H_{15}O_4N_3$. Il y a donc, dans ces conditions, ouverture du cycle phénylimide et amidification des 2 carboxyles libres.

Ces corps cristallisent dans l'alcool à 95° en retenant une molécule d'éthanol et fond à 100-104°C.

NAU lui attribue, sans la justifier, une formule développée asymétrique :



Mais nous avons préparé le même dérivé en chauffant à l'ébullition à reflux pendant 2 heures le monoanilide citrique *symétrique* (1) dissous dans une solution alcoolique d'ammoniaque et nous en déduisons que la formule symétrique



est la seule valable.

b) Sel d'argent :

Assez soluble dans l'eau bouillante, il cristallise en petits prismes par refroidissement.

Teneur en argent :

Matière : 0,290 g

Solution de thiocyanate de potassium 0,1 N utilisée : 7,9 ml

Trouvé, Ag p. 100 : 29,4

Calculé pour $C_{12}H_{15}O_5N_3Ag$ Ag p. 100 : 30,33

c) Sel d'aniline :

Il est cristallisé en prismes fondant à 139°C. Un chauffage à 130°C., pendant 4 à 6 heures, le deshydrate en citrylanililide fondant à 181-182°C.

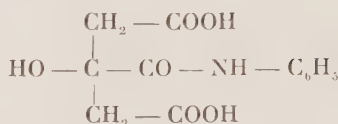
NAU, BROWN et BAILEY. *J. Am. Chem. Soc.*, **47**, 2596, (1925).

(1) Voir page 74.

5) Monoanilide citrique (I)



P.M. : 267



A) PRÉPARATION

Le chauffage à 120-130° C. d'un mélange équimoléculaire d'aniline et d'acide citrique ne nous a pas permis de l'obtenir avec un rendement satisfaisant.

Par contre, nous avons constaté qu'à 115-120° C., le citrate monoanilique est déshydraté quantitativement au bout de 4 heures en monoanilide citrique. Le rendement brut est théorique et à cette température, il ne se forme pas de dérivé anilé.

Dissous dans le minimum d'eau bouillante, le monoanilide citrique cristallise par refroidissement en aiguilles groupées en fines rosaces (photo n° 1). Par évaporation des eaux mères, il se dépose encore une quantité importante de monoanilide citrique.

B) PROPRIÉTÉS

Fondant à 164,5° C. (micropoint de fusion : 165° C.), le monoanilide citrique se dissout facilement dans l'alcool à 95°, l'acétate d'éthyle et dans l'eau chaude. A 20° C., sa solubilité dans l'eau est de 8,70 g p. 100 ml. Il est peu soluble dans l'éther éthylique, insoluble dans le benzène et dans les autres solvants organiques.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,00379 g Camphre : 0,044 g Δt : 13,5°C
Poids moléculaire trouvé : 255
Poids moléculaire calculé pour $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{O}_6\text{N}$: 267

Constantes de dissociation :

Trouvé : $\text{pK}_1 = 5,2$ et $\text{PK}_2 = 5,95$
 $\text{K}_1 = 6,4 \times 10^{-6}$ $\text{K}_2 = 1,1 \times 10^{-6}$

Dosage de l'acidité totale :

L'acidité totale a été dosée par une solution 0,1 N de soude en présence de phénolphthaléine comme indicateur.

Matière : 0,200 g
Solution 0,1 N de soude neutralisée : 14,9 ml
Trouvé, NaOH p. 100 : 29,8
Calculé pour $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{O}_6\text{N}$: 29,96

Dosage de l'azote :

Matière : 0,175 g
 Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 6,5 ml
 Trouvé N p. 100 : 5,20
 Calculé pour $C_{12}H_{13}O_6N$ N p. 100 : 5,24

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,0335 g Brome fixé : 0,060 g
 Trouvé, aniline p. 100 : 34,7
 Calculé pour $C_{12}H_{13}O_6N$ Aniline p. 100 : 34,83

Obtention de sels :

Sel d'argent :

La solution ammoniacale de monoanilide citrique précipite avec les solutions de nitrate d'argent. Mais le précipité n'est pas défini : sa teneur en argent est de 38 p. 100 et ne correspond ni au sel diargentique $C_{12}H_{11}O_6NAg_2$ (44,9 p. 100 d'Argent) ni à un sel mixte ammonioargentique de formule $C_{12}H_{13}O_6N_2Ag$ (27,7 p. 100 d'argent).

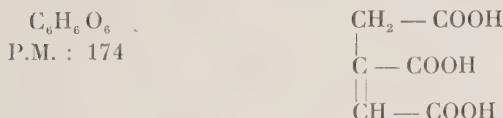
Par contre en solution aqueuse, le monoanilide citrique précipite par le nitrate d'argent en donnant le sel diargentique $C_{12}H_{11}O_6NAg_2$, comme le confirme le dosage de l'argent :

Matière : 0,195 g
 Solution de thiocyanate de potassium 0,1 N utilisée : 8,2 ml
 Trouvé, Ag p. 100 : 45,2
 Calculé pour $C_{12}H_{11}O_6NAg_2$ Ag p. 100 : 44,90

II. — PRÉPARATION ET PROPRIÉTÉS DES ANILIDES ET ANILES ACONITIQUES

Certains de ces corps ont été préparés antérieurement par déshydratation des anilides et aniles citriques ou par action directe de l'aniline sur l'acide aconitique. C'est cette dernière méthode que nous avons préférée.

1) Préparation de l'Acide aconitique.



La technique décrite par HENTSCHEL (29) a été mise en œuvre :

« On chauffe pendant 4 heures dans un appareil à reflux un mélange de 100 g d'acide citrique, 50 g d'eau

HENTSCHEL, *J. Prakt. Chem.*, **35**, 205, (1887).

Cité par WURTZ, *Dictionnaire de Chimie pure et appliquée*, 2^e supplément p. 95. Hachette, éd., Paris, (1892).

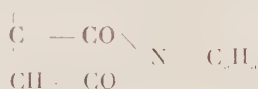
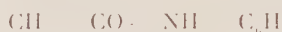
et 100 g d'acide sulfurique concentré ($D = 1,84$). La masse se prend par refroidissement en cristaux qu'on lave avec de l'acide chlorhydrique fumant jusqu'à élimination complète de l'acide sulfurique. Le résidu est de l'acide aconitique ».

Nous avons obtenu ainsi 38 g d'acide aconitique, soit un rendement de 46 p. 100. L'acide est purifié par dissolution dans le minimum d'acide acétique pur bouillant d'où il cristallise par refroidissement en tables microscopiques. Séché sous vide en présence de potasse, il fond à 194°C , point de fusion de l'acide trans-aconitique.

2) Aconitylanililide (X)



P.M. : 306



A) PRÉPARATION

Méthode de MICHAEL (43) : chauffage à 140°C . de l'acide aconitique avec un excès d'aniline.

En chauffant progressivement au bain de sable un mélange de 17 g d'acide aconitique et de 27 g d'aniline, on observe les faits suivants :

A $65-70^{\circ}\text{C}$. la masse devient pâteuse puis se liquéfie.

A 120°C . il y a départ de vapeurs d'eau et d'aniline.

La température est alors élevée et maintenue à 140°C . pendant 2 heures.

Le produit résineux est pulvérisé et lavé à 3 reprises par 50 ml d'éther éthylique pour éliminer l'aniline non combinée. Le résidu est dissous dans l'alcool à 95° bouillant ; l'aconitylanililide cristallise par refroidissement en longues aiguilles prismatiques très légèrement colorées en jaune (photo n° X).

Ces cristaux retiennent une certaine proportion de solvant. Ils fondent à 98°C . en émettant des vapeurs dans lesquelles la présence d'éthanol a été mise en évidence (1) par réduction de la solution nitrochromique et la réaction à l'iodoforme. Une prise d'essai de 0,127 g maintenue à 100°C . pendant 6 heures a subi une perte de poids de 0,0185 g soit 15,5 p. 100. Calculée pour une molécule

(1) Voir note p. 42.

MICHAEL. *Chem. Am. J.*, **9**, 192, (1887).

d'éthanol de cristallisation la perte de poids théorique est de 15 p. 100. Il s'agit donc de l'aconitylanilanilide cristallisé avec une molécule d'alcool.

Ces cristaux ne s'effleurissent pas à l'air et perdent leur molécule d'alcool par chauffage à 100° C. Le rendement en aconitylanilanilide est de 28 g soit 80 p. 100, compte tenu de l'alcool de cristallisation.

B) PROPRIÉTÉS

L'aconitylanilanilide fond à 199-200° C. en se décomposant. Insoluble dans l'eau et dans l'éther éthylique, il est soluble dans l'acétate d'éthyle et dans l'éthanol chaud. Sa solubilité dans l'alcool à 95° est de 9,8 g p. 100 ml à 20° C.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,00427 g Camphre : 0,048 g $\Delta t = 11^\circ\text{C}$
 Poids moléculaire trouvé : 323
 Poids moléculaire calculé pour $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}_2$: 306

Dosage de l'azote :

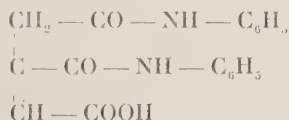
Matière : 0,114 g
 Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 7,6 ml
 Trouvé, N p. 100 : 9,33
 Calculé pour $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}_2$: 306 N p. 100 : 9,47

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,018 g Brome fixé : 0,056 g
 Trouvé, aniline p. 100 : 60,30
 Calculé pour $\text{C}_{18}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}_2$: 306 Aniline p. 100 : 60,78

3) Dianilide aconitique (VII)

$\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2$
 P.M. : 324



PRÉPARATION

Nous n'avons pas pu préparer directement le dianilide aconitique avec un bon rendement :

A une température inférieure à 130° C. le chauffage de l'acide aconitique avec l'aniline conduit presque exclusivement aux dérivés anilés. Nous avons donc utilisé l'hydrolyse partielle de l'aconitylanilanilide par une solution de carbonate neutre de sodium. On dissout 20 grammes d'aconitylanilanilide au bain-marie bouillant dans 100 ml de

solution de carbonate neutre de sodium à 10 p. 100. Acidifiée par un léger excès d'acide acétique la solution laisse déposer un abondant précipité. Celui-ci, lavé à l'eau froide a été essoré et séché dans le vide. Il pèse 21,5 g.

Il s'agit du dianilide aconitique hydraté, car 0,1085 g ont perdu après 12 heures d'étuve à 100° C. 0,0105 g, soit 9,7 p. 100. Cette perte de poids correspond à 2 molécules d'eau de cristallisation, le chiffre théorique étant de 10 p. 100.

Le rendement en dianilide aconitique sec et brut est de 92 p. 100.

Pour obtenir l'anilide cristallisé le dissoudre (20 g) dans le minimum d'alcool à 95° bouillant et faire une cristallisation fractionnée :

1. Après une nuit de repos à la glacière, la solution laisse déposer un abondant précipité de fines aiguilles d'un blanc nacré (photo n° VIIa). Séché à 100° C., il pèse 11,25 g. Le point de fusion est de 202° C.

2. Après une semaine de repos à la glacière, la solution alcoolique résiduelle donne un nouveau précipité : il se différencie du premier par son aspect en lamelles hexagonales, brillantes, très légèrement colorées en jaune (photo n° VIIb). Leur point de fusion est de 171-173° C.

Rendement : 3,10 g.

Par cristallisation fractionnée dans l'alcool à 95°, il est donc possible de séparer : 56,2 p. 100 de dianilide aconitique cristallisé en aiguilles fondant à 202° C. et 16,5 p. 100 de dianilide aconitique cristallisé en lamelles fondant à 171-173° C. La solution mère contient encore 27,3 p. 100 d'un mélange des deux fractions.

L'analyse a porté sur les deux isomères isolés.

A) DIANILIDE ACONITIQUE DE P.F. 202° C.

Insoluble dans l'éther éthylique et les solvants organiques, l'acétate d'éthyle excepté, il est soluble dans l'eau et l'alcool à 95°. Sa solubilité dans l'eau augmente avec la température. Les coefficients de solubilité sont les suivants:

<i>Solution dans</i>	<i>Température en °C</i>	<i>Dianilide aconitique en g p. 100 ml</i>
Eau distillée	15	0,22
» »	20	0,24
» »	40	0,35
Alcool à 95°	15	1,33

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,009 g Camphre : 0,0735 g $\Delta t = 14^{\circ}\text{C}$
Poids moléculaire trouvé : 349
Poids moléculaire calculé pour $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2$: 324

Spectre Infra-Rouge :

Il présente 5 maximum entre 5 et 12 μ : à 6,5 — 7,60 — 9,0 — 10,75 et 11,25 μ . Seul le maximum à 6,50 μ , très intense, est caractéristique d'amides N substituées.

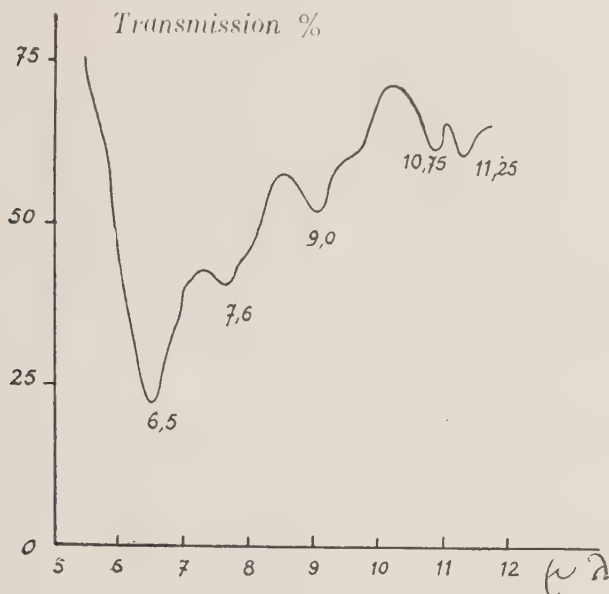


FIG. 4

Spectre infra-rouge du dianilide aconitique (P. F. : $202^{\circ}\text{C}.$)

Constante de dissociation :

$\text{pK} = 3,90$ et $\text{K} = 1,3 \times 10^{-4}$

Dosage de l'acidité totale :

La solution aqueuse est acide au rouge de méthyle, neutre à l'hélianthine. Le dosage de l'acidité totale par la solution 0,1 N de soude en présence de phénolphthaléine comme indicateur a donné :

Matière 0,200 g
Solution 0,1 N de soude neutralisée : 6,2 ml
Trouvé, NaOH p. 100 : 12,4
Calculé pour $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2$ NaOH p. 100 : 12,34

Dosage de l'azole :

Matière : 0,119 g
 Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 7,25 ml
 Trouvé, N p. 100 : 8,50
 Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$ N.p. 100 : 8,64

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,026 g Brome fixé : 0,0752
 Trouvé, aniline p. 100 : 54,0
 Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$ Aniline p. 100 : 57,4

Obtention de sels :

1) *Sel de sodium :*

Le dianilide aconitique est exactement neutralisé par la soude.

Le sel de sodium précipite par addition à la solution d'alcool à 95°. Très soluble dans l'eau, il fond en se décomposant vers 130° C.

2) *Sel d'ammonium :*

La solution alcoolique de dianilide aconitique donne au bain-marie avec un excès d'ammoniaque un sel qui cristallise par refroidissement en longues aiguilles incolores très solubles dans l'eau. Il fond à 170° C.

3) *Sel de baryum :*

L'analyse a porté sur le sel séché à l'étuve à 110° C. jusqu'à poids constant.

Le dosage de baryum a donné les chiffres suivants :

Matière : 0,273 g SO_4Ba : 0,085 g
 Trouvé Ba p. 100 : 18,30
 Calculé pour $(C_{18}H_{16}O_4N_2)_2Ba$ Ba p. 100 : 17,4

4) *Sel d'aniline :*

Il cristallise en lamelles fondant à 181° C.

Chauffé à 120° C. pendant 6 heures, il est transformé en trianilide aconitique fondant à 198-199° C. avec décomposition.

B) DIANILIDE ACONITIQUE DE P.F. 171-173° C.

Il présente sensiblement les mêmes solubilités que son isomère. Il est toutefois un peu plus soluble dans l'alcool à 95° : 1,76 g p. 100 ml à 15° C. au lieu de 1,33 g.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,062 g Camphre : 0,055 g Δt : 13° C
 Poids moléculaire trouvé : 347
 Poids moléculaire calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$: 324

Spectre infra-rouge :

Des 5 maximum situés entre 5 et 12 μ , à 6,40 — 8,20 — 9,10 — 10,20 et 11,20 μ , seul le maximum à 6,40 μ , très intense, peut être interprété avec certitude comme caractéristique des amides N substitués.

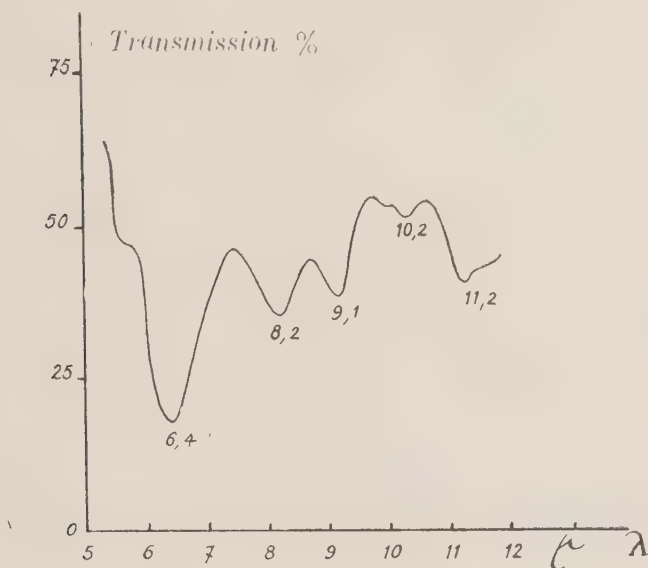


FIG. 5

Spectre infra-rouge du dianilide aconitique (P.F. : 173°C)

Constante de dissociation :

pK = 4,00 et K = $1,0 \times 10^{-4}$

Dosage de l'acidité totale :

Elle a été titrée par la solution de soude 0,1 N en présence de phénolphthaléine comme indicateur :

Matière : 0,200 g

Solution 0,1 N de soude neutralisée : 6,20 ml

Trouvé, NaOH p. 100 : 12,4

Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$ NaOH p. 100 : 12,34

Dosage de l'azole :

Matière : 0,130 g

Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 8,10 ml

Trouvé N p. 100 : 8,70

Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$ N p. 100 : 8,64

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,031 g Brome fixé : 0,090 g
 Trouvé, aniline p. 100 : 56,20
 Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$ Aniline p. 100 : 57,40

Obtention de sels :

Le sel d'ammonium fond à 135° C. ; il est très soluble dans l'eau et dans l'alcool à 95°.

Le sel d'aniline, cristallisé en lamelles microscopiques, fond à 166° C. Chauffé à 120° C. pendant 6 heures, il est déshydraté en trianilide aconitique fondant avec décomposition à 198-199° C.

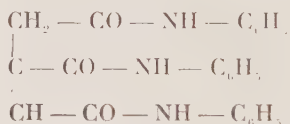
*
**

Les deux fractions isolées qui diffèrent par certaines propriétés physiques (P.F.) présentent les mêmes caractères chimiques. Il s'agit évidemment de deux isomères qui se produisent dans l'hydrolyse partielle de l'aconitylanililide. Ces deux isomères sont facilement séparés par cristallisation fractionnée.

L'étude de cette isomérisation est envisagée plus loin (1).

4) Trianilide aconitique (VIII)

$C_{21}H_{21}O_3N_3$
 P.M. : 399



A) PRÉPARATION

Au cours de la préparation de l'aconitylanililide, par chauffage à 150° C., d'un mélange d'acide aconitique et d'aniline, MICHAEL (43) a observé « la production d'un corps amorphe, insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool et qui paraît être l'aconito-anilide, ou trianilide aconitique ».

Nous n'avons pu confirmer cette hypothèse, mais nous avons préparé le trianilide aconitique cristallisé, et avec un rendement théorique, à partir du sel d'aniline du dianilide aconitique :

5 g de ce sel sont maintenus à l'étuve à 120° C. pendant 6 heures. Dissous dans l'alcool à 95° bouillant, le trianilide aconitique cristallise par refroidissement en lamelles rectangulaires incolores (photo n° VIII).

MICHAEL, *Ber. D. Chem. Ges.*, **19**, 1372, (1886).

(1) Voir page 76.

B) PROPRIÉTÉS

Le trianilide aconitique fond à 198-199° C. en se décomposant. Insoluble dans l'eau, l'éther éthylique et les solvants organiques, l'acétate d'éthyle excepté, il se dissout bien à chaud, dans l'alcool à 95°. Sa solubilité dans ce solvant est de 0,75 g p. 100 ml à 20° C.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,0056 g Camphre : 0,0469 g Δt : 12°C
 Poids moléculaire trouvé : 397
 Poids moléculaire calculé pour $C_{21}H_{21}O_3N_3$: 399

Dosage de l'azole :

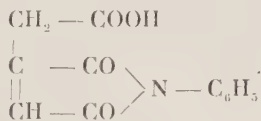
Matière : 0,125 g
 Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 9,7 ml
 Trouvé, N p. 100 : 10,86
 Calculé pour $C_{21}H_{21}O_3N_3$ N p. 100 : 10,53

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,024 g Brome fixé : 0,0832 g
 Trouvé, aniline p. 100 : 67,2
 Calculé pour $C_{21}H_{21}O_3N_3$ Aniline p. 100 : 69,9

5) Acide aconitylanile-carboxylique (IX)

$C_{12}H_9O_3N$
 P.M. : 231



A) PRÉPARATION

Il a été obtenu par déshydratation de l'aconitate mono-anilique, préparé lui-même par combinaison de l'aniline et de l'acide aconitique en quantités équimoléculaires.

17,4 g d'acide aconitique et 9,3 g d'aniline sont dissous dans 100 ml d'alcool à 95°. Après 3 heures de repos, l'alcool est distillé sous pression réduite, et le résidu est chauffé au bain de sable à 140-150° C. pendant 2 heures.

Le produit de la réaction est dissous dans le minimum d'alcool à 95° bouillant. Par refroidissement, l'acide aconitylanile-carboxylique cristallise en aiguilles incolores (photo n° IX).

Rendement 14,5 g, soit 62 p. 100.

Par évaporation de la solution mère, on peut recueillir encore une fraction importante de ce dérivé.

B) PROPRIÉTÉS

Fondant à 189° C. (bloc Maquenne et bloc de Köfler) il est soluble dans l'eau (3,85 g p. 100 ml à 20° C.), bien soluble dans l'alcool à 95° et l'acétate d'éthyle, légèrement soluble dans l'éther.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,004 g Camphre : 0,043 g Δt : 16,5° C
 Poids moléculaire trouvé : 225
 Poids moléculaire calculé pour $C_{12}H_9O_1N$: 231

Constante de dissociation :

Trouvé : pK 3,70 et K $2,0 \times 10^{-4}$

Dosage de l'acidité totale :

Elle a été titrée par une solution de soude 0,1 N en présence de phénolphthaléine comme indicateur :

Matière : 0,200 g
 Solution de soude 0,1 N neutralisée : 8,65 ml
 Trouvé NaOH p. 100 : 17,3
 Calculé pour $C_{12}H_9O_1N$ NaOH p. 100 : 17,31

Dosage de l'azole :

Matière : 0,133 g
 Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 5,9 ml
 Trouvé N p. 100 : 6,2
 Calculé pour $C_{12}H_9O_1N$ N p. 100 : 6,06

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,037 g Brome fixé : 0,728 g
 Trouvé aniline p. 100 : 38,1
 Calculé pour $C_{12}H_9O_1N$ Aniline p. 100 : 40,0

*Obtention de sels :*1) *Sel de baryum :*

Le dosage du baryum sur le sel desséché à 110° C. jusqu'à poids constant, nous a donné les chiffres suivants :

Matière : 0,288 g SO_4Ba : 0,134 g
 Trouvé, Ba p. 100 : 23,2
 Calculé pour $(C_{12}H_8O_1N)_2Ba$ Ba pour 100 : 22,91

2) *Sel d'aniline :*

Cristallisé dans l'alcool, en aiguilles fondant à 156-157° C., ce sel est déshydraté en aconitylanilamide fondant à 199° C. par un chauffage à 130° C. pendant 6 heures.

Réaction colorée :

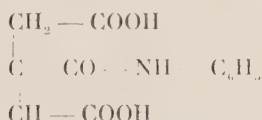
Par chauffage au bain-marie bouillant avec une solution de xanthidrol dans l'anhydride acétique, l'acide aconitylanile-carboxylique donne une coloration verte qui vire au rouge.

Dans les mêmes conditions, nous n'avons obtenu aucune coloration avec les autres aniles et anilides citriques et aconitiques.

L'acide aconitique donne une coloration vert-bleu, stable.

6) Monoanilide aconitique (VI)

$C_{12}H_{11}O_5N$
P.M. : 249



A) PRÉPARATION

Nous avons utilisé l'hydrolyse ménagée de l'acide aconitylanile-carboxylique par le carbonate neutre de sodium :

10 grammes d'acide aconitylanile-carboxylique sont dissous dans 100 ml de carbonate neutre de sodium à 10 p. 100. La solution est portée au bain-marie bouillant pendant 30 minutes.

Il se forme, ainsi que nous l'avons vu précédemment (page 33), le sel de sodium du monoanilide aconitique qui est décomposé par la quantité nécessaire, sans excès, d'acide chlorhydrique 2 N.

La solution est évaporée au bain-marie ; le résidu, séché à 100° C. est épuisé par l'éther éthylique anhydre. Par évaporation des solutions éthérées nous avons recueilli 4.10 g de monoanilide aconitique cristallisé (Rendement 38 p. 100).

Par ce procédé, il ne se dépose, après cristallisation fractionnée dans l'eau et dans l'alcool à 95°, qu'une seule forme cristallisée en aiguilles incolores rassemblées en rosaces (photo n° VI).

B) PROPRIÉTÉS

Fondant à 181° C. (micropoint de fusion 179° C.), le monoanilide aconitique est très soluble dans l'alcool à 95°

et l'acétate d'éthyle, soluble dans l'eau (7,25 g p. 100 ml à 20° C.) légèrement soluble dans l'éther éthylique.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,0042 g. Camphre : 0,0525 g Δt : 12°C
Poids moléculaire trouvé : 265
Poids moléculaire calculé pour $C_{12}H_{11}O_5N$: 249

Constantes de dissociation :

Trouvé : $pK_1 = 3,45$ et $pK_2 = 5,7$
 $K_1 = 3,5 \times 10^{-4}$ et $K_2 = 2,0 \times 10^{-6}$

Dosage de l'acidité totale :

La solution aqueuse est acide au rouge de méthyle et neutre à l'hélianthine. L'acidité totale a été titrée par la solution de soude 0,1 N en présence de phénolphthaléine comme indicateur :

Matière : 0,200 g
Solution de soude 0,1 N neutralisée : 16,20 ml
Trouvé NaOH p. 100 : 32,4
Calculé pour $C_{12}H_{11}O_5N$ NaOH p. 100 : 32,1

Dosage de l'azole :

Matière : 0,190 g
Solution d'acide sulfurique 0,1 N neutralisée : 7,75 ml
Trouvé, N p. 100 : 5,70
Calculé pour $C_{12}H_{11}O_5N$ N p. 100 : 5,62

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,033 g Brome fixé : 0,0608 g
Trouvé, aniline p. 100 : 35,70
Calculé pour $C_{12}H_{11}O_5N$ Aniline p. 100 : 37,3

Obtention de sels :

La solution ammoniacale de monoanilide aconitique précipite avec les solutions de nitrate de baryum, mais le précipité isolé n'est pas défini : sa teneur en baryum est de 30,7 p. 100, et ne correspond ni au sel de baryum $C_{12}H_9O_5N Ba$ (35,67 p. 100 de baryum) ni au sel mixte d'ammonium et de baryum, de formule $(C_{12}H_{13}O_5N_2)_2 Ba$ (20,5 p. 100 de baryum). Par contre le monoanilide aconitique précipite par le nitrate d'argent en solution aqueuse en donnant le sel diargentique $C_{12}H_9O_5 Ag_2$ comme le confirme le dosage de l'argent :

Matière : 0,164 g
Solution de thiocyanate de potassium 0,1 N utilisée : 7,2 ml
Trouvé Ag p. 100 : 47,0
Calculé pour $C_{12}H_9O_5N Ag_2$ Ag p. 100 : 46,65

CHAPITRE IV

Action des déshydratants sur les anilides citriques

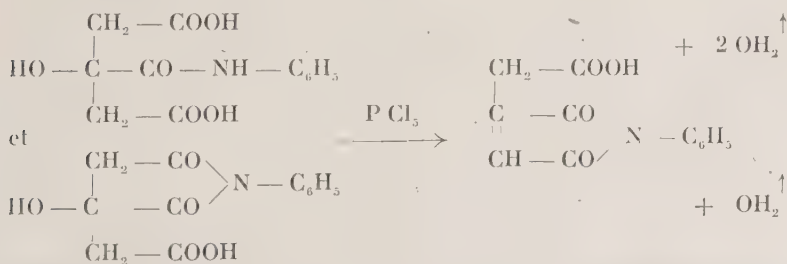
1. — ACTION DU PENTACHLORURE DE PHOSPHORE

Le pentachlorure de phosphore déshydrate les amides primaires en chlorures d'imines, puis en nitriles. VON BRAUN et HEYMONS (60) ont observé, que sous l'influence de ce réactif, les chlorures d'imines provenant d'anilides aliphatiques se transforment régulièrement en quinoléines substituées, à condition que le radical aryle ne soit pas substitué en ortho.

En particulier, selon BACHEBERG (1), il se forme du chlorhydrate de chloro-3-anilino-4-chlorométhyl-2-quinoléine, si l'on traite une molécule d'acétanilide par trois molécules de pentachlorure de phosphore.

Cependant NAU et ses collaborateurs (45) qui ont étudié la déshydratation de l'acide citrylanile-carboxylique et du monoanilide citrique par chauffage à 95°C. pendant une heure en présence d'un excès de pentachlorure de phosphore, n'ont pas obtenu de dérivés quinoléiques.

Selon ces auteurs, la réaction est la suivante :



VON BRAUN et HEYMONS. *Ber.*, **63**, 3191, (1930).

BACHEBERG. *J. Chem. Soc.*, 1138, (1932).

NAU, BROWN et BAILEY. *J. Am. Chem. Soc.*, **47**, 2596, (1925).

L'acide acronitylanile-carboxylique a été identifié par son point de fusion ($189^{\circ}\text{C}.$) et les points de fusion de ses esters méthylque ($149^{\circ}\text{C}.$) et éthylique ($123^{\circ}\text{C}.$).

2. - ACTION DE LA CHALEUR

DI MENTO (14) a mis en évidence le rôle de la température dans la formation des anilides et aniles citriques :

Les dérivés anilés ne s'obtiennent qu'à une température supérieure à $130^{\circ}\text{C}.$, généralement entre 140 et $150^{\circ}\text{C}.$

Que se passe-t-il à des températures plus élevées ?

Des dérivés quinoléiques en effet se forment par simple chauffage de certains anilides :

HEIMAN (28) a réussi la synthèse de 2,4-dihydroxyquinoléines en chauffant à $250^{\circ}\text{C}.$, en solvant neutre, des esters anilidomaloniques. Nous avons appliqué le mode opératoire qu'il décrit dans sa thèse au monoanilide et au dianilide citrique à des températures comprises entre 150 et $250^{\circ}\text{C}.$

Quelques grammes d'anilide sont projetés par petites portions dans un bain d'huile de paraffine porté à la température voulue.

Après refroidissement, les substances qui se déposent sont recueillies par décantation et dissoutes dans la quantité minimum d'alcool à 95° . Après filtration on laisse cristalliser à la glacière.

Les résultats obtenus sont les suivants :

a) Entre 150 et $200^{\circ}\text{C}.$

Nous n'avons observé au cours de la réaction qu'un dégagement de vapeur d'eau.

Le monoanilide citrique donne l'acide citrylanile-carboxylique caractérisé par son point de fusion et son sel d'aniline.

Le dianilide citrique conduit au citrylanilanilide également caractérisé par ses constantes physiques.

Le rendement diminue avec l'élévation de la température.

b) Au delà de $200^{\circ}\text{C}.$

Le monoanilide et le dianilide citriques subissent rapidement une décomposition pyrogénée ; le dégagement de vapeur d'eau s'accompagne de vapeurs d'aniline et d'anhydride carbonique.

DI MENTO. *Ann. Chim. Applicata*, **24**, 464, (1934).

HEIMANN. *Thèse Doct. Univ. Dijon*, (1937).

Il est possible qu'il se forme des dérivés anilés des acides mésaconique, citraconique et itaconique, mais c'est une hypothèse non vérifiée.

c) A 250°C.

Cette température, préconisée par HEIMANN (28) pour la synthèse de dérivés quinoléiques, donne une masse carbonueuse presque immédiatement après l'introduction de la substance dans le bain d'huile.

Il ne paraît donc pas se former de dérivés quinoléiques, par simple chauffage des anilides citriques.

3. ACTION DE L'ANHYDRIDE ACÉTIQUE

Les anilides citriques se dissolvent à chaud dans l'anhydride acétique. La solution, colorée en jaune, brunit rapidement.

Nous avons porté à l'ébullition sous réfrigérant à reflux, pendant une heure, 50 ml d'une solution à 10 p. 100 de dianilide citrique dans l'anhydride acétique. Après refroidissement, l'anhydride acétique est décomposé par 50 ml d'une solution aqueuse de carbonate neutre de sodium à 5 p. 100, ajoutée avec précaution.

La solution est épuisée par trois fois 15 ml de chloroforme :

Par évaporation du chloroforme, cristallisent des aiguilles prismatiques d'acétanilide caractérisé par son point de fusion (114° C.) et par les réactions générales des anilides (dérivés bromés, réactions d'oxydation avec les hypobromites et hypochlorites alcalins).

Le monoanilide citrique conduit aux mêmes résultats :

L'action de l'anhydride acétique se traduit donc par une décomposition des anilides citriques qui sont transformés en acétanilide.

MEYER et HEIMANN (41) avaient d'ailleurs signalé cette réaction à propos des esters anilidomaloniques.

HEIMANN. *Thèse Doct. Univ. Dijon*, (1937).

MEYER et HEIMANN. *C. R. Ac. Sc.*, **204**, 1204, (1937).

4. — ACTION DE L'ACIDE SULFURIQUE

Nous avons étudié l'action de l'acide sulfurique d'abord sur les anilides citriques et ensuite sur la réaction de condensation à chaud de l'aniline avec l'acide citrique.

A) Action de l'Acide sulfurique sur les Anilides citriques.

Nous avons utilisé le mode opératoire décrit pour la synthèse du méthylcarbostyryle (1) à partir de l'acétoacétanilide :

10 g de dianilide citrique sont dissous dans 40 ml d'acide sulfurique concentré ($D = 1,84$) chauffé à 75°C . Portée à 95°C . pendant 15 minutes, la solution brunit et des vapeurs à odeur d'acétone se dégagent. Refroidie à 65°C ., elle est versée avec précaution dans un Bêcher contenant 500 ml d'eau glacée : il ne se forme aucun précipité.

La solution contient de l'aniline, caractérisée par la formation de tribromoaniline et par ses réactions d'oxydation.

La recherche de l'acide citrique (réaction de DENIGES) est positive. La recherche de l'acide aconitique est réalisée de la façon suivante : la solution, alcalinisée par un excès de soude, est épuisée par l'éther éthylique jusqu'à élimination totale de l'aniline.

Acidifiée par un léger excès d'acide chlorhydrique, elle est alors évaporée au bain-marie.

Le résidu est épuisé par l'éther éthylique anhydre : l'évaporation de la solution éthérée donne un dépôt cristallin d'acide citrique dans lequel nous avons caractérisé l'acide aconitique par les réactions suivantes :

a) *Réaction au permanganate de potassium en milieu alcalin :*

Quelques milligrammes sont dissous dans 2 ml de soude à 5 p. 100. La solution se colore *immédiatement* en vert émeraude avec 2 gouttes de permanganate de potassium à 1 p. 100. La coloration vire lentement au jaune, puis au brun.

L'acide citrique ne donne pas cette réaction qui a été proposée par BERLINGOZZI (3) pour déceler des traces d'acide aconitique dans l'acide citrique.

(1) *Organic Syntheses*, **24**, 68, (1944).

BERLINGOZZI, *Ann. Chim. Applicata*, **24**, 217, (1934).

b) *Réaction à l'anhydride acétique en présence de pyridine :*

En présence de pyridine, l'acide aconitique se colore à froid en violet rouge sous l'influence de l'anhydride acétique. La coloration est encore perceptible avec quelques microgrammes d'acide.

Malheureusement, l'acide citrique donne, dans les mêmes conditions, une coloration carmin, et cette réaction, décrite par FURTH et HERRMANN (23), ne peut servir à la recherche de l'acide aconitique dans l'acide citrique.

Nous avons tenté de la modifier pour obtenir une coloration spécifique de l'acide aconitique.

Nous avons constaté que la présence d'acide acétique ou d'éthanol inhibe très fortement la réaction de l'acide citrique :

En 5 minutes la solution se colore simplement en jaune. Dans le même temps, l'acide aconitique donne la coloration rouge cerise caractéristique.

La sensibilité est assez diminuée, mais la caractérisation de 0,05 à 0,1 mg d'acide aconitique est facilement réalisable en présence de quantités d'acide citrique plus de dix fois supérieures.

Voici donc le mode opératoire préconisé :

Dissoudre quelques milligrammes de substance dans 1 ml d'acide acétique pur ou d'alcool absolu. Ajouter 1 ml d'anhydride acétique et 1 ml de pyridine. Seul l'acide aconitique donne une coloration rouge violacée en 5 minutes.

Cette réaction modifiée est positive avec le résidu laissé par l'éther éthylique.

c) *Réaction à l'anhydride acétique en présence de phénylhydrazine :*

Dans le but d'obtenir une réaction colorée qui permette la différenciation des acides citrique et aconitique, nous avons remplacé la pyridine utilisée dans la réaction de FURTH-HERRMANN par diverses bases organiques.

L'aniline donne une coloration rouge orangé avec les deux acides en présence d'anhydride acétique, mais la phénylhydrazine réagit différemment :

Une fraction de milligramme d'acide aconitique est dissoute au bain-marie bouillant dans 10 ml d'une solution à 1 p. 100 de chlorhydrate de phénylhydrazine dans l'anhydride acétique. Il se développe une intense coloration violette qui vire au bleu en moins de 5 minutes.

Dans les mêmes conditions, quelques centigrammes d'acide citrique ne donnent aucune coloration dans les 5 premières minutes, et au bout d'un quart d'heure, une légère coloration rougeâtre non caractéristique.

Cette réaction nous a paru la plus sensible pour caractériser l'acide aconitique en présence d'acide citrique ; elle ne se prête cependant pas à un dosage colorimétrique de l'acide aconitique, car la coloration n'est pas assez stable.

La réaction est positive, et l'existence d'acide aconitique est ainsi confirmée dans les produits de la réaction de l'acide sulfurique sur le dianilide citrique.

On peut donc affirmer que l'acide sulfurique concentré décompose le dianilide citrique en aniline et en acide citrique. Celui-ci est lui-même attaqué avec production d'acétone et déshydraté en acide aconitique.

Le monoanilide citrique conduit aux mêmes résultats.

Dans nos conditions expérimentales il ne se forme pas de dérivés quinoléiques.

B) Action de l'Acide sulfurique sur la réaction de condensation de l'Aniline avec l'Acide citrique.

Nous avons étudié la condensation à 140° C. d'une ou deux molécules d'aniline avec une molécule d'acide citrique, en présence d'une quantité d'acide sulfurique inférieure ou au plus égale à celle nécessaire pour salifier la base organique. Aux concentrations plus élevées, l'acide citrique se décompose dès l'ébullition du mélange (vers 120° C.).

Mode opératoire

Un mélange de 50 g d'acide citrique pulvérisé, 50 g d'aniline et 20 g d'acide sulfurique concentré est chauffé à 110° C. où il y a fusion de la masse. A 120° C., le liquide entre en ébullition avec départ de vapeurs d'eau et d'acétone. La température est progressivement élevée à 140° C. ; au bout de 90 minutes, tout dégagement cesse, la réaction est terminée. Nous avons obtenu 82 g d'une résine jaune qui durcit par refroidissement. Le produit brut pulvérisé est lavé à l'eau pour éliminer l'acide sulfurique en excès et le sulfate d'aniline formé.

Il est ensuite dissous dans l'alcool à 95° bouillant d'où il cristallise en longues aiguilles prismatiques fondant à 98° C. La dessiccation à l'étuve à 100° C. pendant 6 heures conduit à des microcristaux fondant à 199° C. avec décomposition.

Ce corps donne les réactions générales des anilides.

Par distillation sèche en présence de poudre de zinc, nous n'avons pu mettre en évidence le noyau quinoléique mais des dérivés pyrroliques (1).

Le point de fusion précité, et tous les caractères physiques et chimiques sont ceux de l'aconitylanilide.

En particulier :

a) La potasse dissout ce dérivé en donnant une coloration rouge fugace et la solution présente une fluorescence violette à la lumière de Wood.

b) Il se dissout à chaud dans les solutions de carbonate neutre de sodium avec dégagement d'anhydride carbonique. Un excès d'acide acétique provoque la formation d'un précipité légèrement soluble dans l'eau chaude d'où cristallisent par refroidissement de fines aiguilles blanc-nacrées.

L'analyse centésimale du corps cristallisé à 2 molécules d'eau, a donné les chiffres suivants (2) :

	I	II
Carbone	60,02	60,9
Hydrogène	5,49	5,9
Oxygène	26,17	24,15
Azote	8,32	7,6

La formule du dianilide aconitique cristallisé avec deux molécules d'eau, $C_{18}H_{16}O_4N_2 \cdot 2OH_2$, correspond à des pourcentages très voisins :

Carbone	60,0
Hydrogène	5,55
Oxygène	26,66
Azote	7,79

Nous avons vérifié qu'il s'agissait bien du dianilide aconitique en faisant cristalliser dans l'alcool à 95° les deux formes fusibles respectivement à 171 et 202° C. et en déterminant sur cette dernière qui prédomine, le poids moléculaire et le pourcentage d'aniline. Nous avons en outre caractérisé l'acide aconitique dans les produits d'hydrolyse.

Détermination de la masse moléculaire :

Matière : 0,0054 g	Camphre : 0,059 g	Δt : 10,5°C
Poids moléculaire trouvé : 348		
Poids moléculaire calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$:	324	

(1) Les réactions en ont été décrites dans les généralités.

(2) Ces analyses ont été effectuées dans les laboratoires du C.N.R.S. et de contrôle des médicaments.

Dosage de l'aniline :

Matière : 0,0195 g	Brome fixé : 0,0736 g
Trouvé, aniline p. 100 : 54,9	
Calculé pour $C_{18}H_{16}O_4N_2$	Aniline p. 100 : 57,4

Isolement de l'acide aconitique :

Après hydrolyse acide de l'anilide, l'acide aconitique est précipité à l'état de sel de baryum :

Une solution de 10 g d'anilide dans 150 ml d'acide chlorhydrique au tiers est maintenue pendant 1 heure à l'ébullition sous réfrigérant à reflux. Après refroidissement, elle est alcalinisée par un excès d'ammoniaque et épuisée à 3 reprises par 50 ml d'éther éthylique pour éliminer l'aniline libérée.

L'addition de 50 ml de solution de chlorure de baryum à 10 p. 100 détermine la formation d'un précipité gélatineux qui filtre difficilement sur Büchner. Lavé à l'eau ammoniacale jusqu'à élimination des traces de chlore, il est desséché à l'étuve à 110° C. pendant 6 heures. Nous avons obtenu ainsi une poudre blanche, amorphe, très peu soluble dans l'eau, soluble dans les acides chlorhydrique et nitrique.

L'ion baryum est facilement décelé par ses réactifs habituels.

Dosage du baryum :

Matière : 0,400 g	SO ₄ Ba : 0,356 g
Trouvé, Ba p. 100 : 52,3	
Calculé pour $(C_6H_5O_6)_2Ba_3$	Ba p. 100 : 53,2

Caractérisation de l'acide aconitique :

Un gramme de ce sel est traité par 5 ml d'acide sulfurique 4 N. Après 30 minutes d'ébullition le mélange est trituré au mortier avec 20 g de sulfate de soude anhydre jusqu'à formation d'une masse pulvérulente qui est épuisée à 3 reprises par 20 ml d'éther éthylique anhydre.

La solution étherée laisse déposer par évaporation des aiguilles incolores fondant à 125° C., point de fusion de l'acide cis-acronitique. Après un chauffage d'une heure à 125° C., ces cristaux ont un point de fusion de 150 à 170° C. suivant les essais.

Nous n'avons pu obtenir le point de fusion de l'acide trans-acronitique (194° C.) malgré une seconde cristallisation dans l'éther.

L'acide organique isolé donne toutes les réactions colorées de l'acide aconitique :

RÉACTION DE ROEDE (54) : coloration violette avec l'anhydride acétique à chaud (1).

RÉACTION DE FURTH-HERRMANN (23) : coloration rouge violacée avec l'anhydride acétique en présence de pyridine.

RÉACTION AU CHLORHYDRATE DE PHÉNYLHYDRAZINE EN SOLUTION DANS L'ANHYDRIDE ACÉTIQUE : coloration violette virant au bleu.

En résumé, la condensation à 140° C. de l'aniline (2 molécules) avec l'acide citrique (1 molécule), en présence d'acide sulfurique, conduit à l'aconitylanilamide d'où dérive facilement le dianilide aconitique.

En faisant varier les quantités d'acide sulfurique, nous avons constaté que le rendement de la réaction est maximum (80 p. 100) lorsque la concentration en acide sulfurique correspond au quart de la quantité calculée pour salifier l'aniline présente dans le milieu réactionnel. Dans ces conditions, et jusqu'à la température de 145° C., nous n'avons pas observé de décomposition de l'acide citrique en acétone. Sa déshydratation en acide aconitique est totale et l'aconitylanilamide est le seul dérivé anilé isolé.

De même, la condensation à 140° C., en présence d'acide sulfurique, d'une molécule d'aniline avec une molécule d'acide citrique conduit à l'acide aconitylanile-carboxylique identifié par ses caractères physiques et chimiques.

Le rendement est maximum (80 p. 100) lorsque l'acide sulfurique ajouté égale le quart de la quantité nécessaire pour salifier l'aniline. Pour cette concentration, et jusqu'à une température de 145° C., l'acide citrique est totalement déshydraté en acide aconitique : l'acide aconitylanile-carboxylique est le seul dérivé anilé isolé.

(1) Cette réaction est inhibée par des traces de citrates, d'acétates ou d'amines. Elle ne peut donc servir à caractériser l'acide aconitique dans un mélange des deux acides : citrique et aconitique

ROEDE, *J. Am. Pharm. Assoc.*, **30**, 74, (1941).

FURTH et HERRMANN, *Biochem. Zeits.*, **280**, 448, (1935).

*
* *

En conclusion, il résulte de nos expériences personnelles que nul des déshydratants étudiés ne permet la synthèse de dérivés quinoléiques à partir des anilides citriques.

La chaleur (entre 140-150° C.), le pentachlorure de phosphore en excès, l'acide sulfurique, à des concentrations et températures bien déterminées, les déshydratent en aniles aconitiques.

En présence d'acide sulfurique, la condensation à 140° C. de l'aniline avec l'acide citrique conduit régulièrement aux aniles aconitiques. C'est la méthode de préparation la plus avantageuse de l'acide aconitylanile-carboxylique et de l'aconitylanilanilide.

CHAPITRE V

Essai d'interprétation des résultats

Nos résultats expérimentaux concordent dans l'ensemble avec ceux publiés antérieurement. Nous pensons cependant que la comparaison des propriétés des aniles et anilides citriques et aconitiques justifie quelques nouvelles remarques.

1. — HYDROLYSE

a) Nous avons observé que les hydrolyses en milieu acide étaient plus régulières que les hydrolyses alcalines, et que la décomposition des anilides et anilès citriques était moins rapide que celle des dérivés aconitiques.

DAVIS (12), dans une étude du dédoublement de divers anilides par la soude, a obtenu des résultats comparables aux nôtres, et constaté que la stabilité de l'anilide était d'autant plus grande qu'il dérivait d'un acide ramifié.

CALVET (8) a comparé les valeurs des constantes de saponification avec les valeurs des constantes de dissociation des acides correspondants. D'après cet auteur, « sans qu'il y ait proportionnalité exacte, on peut dire qu'un amide est d'autant plus vile saponifié que l'acide correspondant est plus fort ».

DAVIS, *J. Chem. Soc.*, **95**, 1397, (1909).

CALVET, *Bull. Soc. Chim.*, **51**, 719, (1932).

Les constantes de dissociation des acides citrique et aconitique sont :

Acide citrique :

$$K_1 = 8,3 \times 10^{-4}, K_2 = 1,77 \times 10^{-5}, K_3 = 1,3 \times 10^{-6}.$$

Acide aconitique :

$$K_1 = 1,6 \times 10^{-3}, K_2 = 3,6 \times 10^{-5}, K_3 = 2,9 \times 10^{-6} (?) (1).$$

Nos résultats confirment donc les observations de ces auteurs.

b) Nous avons constaté que l'ouverture du cycle phénylimide des aniles citriques et aconitiques était réalisée par l'ammoniaque à l'ébullition.

SKINNEY et RUHEMANN (57) ont trouvé au contraire, que l'ammoniaque hydrolysait la fonction phénylamide de l'aconitylanilamide sans attaquer le cycle phénylimide de ce dérivé.

Cependant, l'hydrolyse partielle par l'ammoniaque des aniles citriques et aconitiques ne semble pas un cas particulier puisque le succinimide et le succinanile par exemple, sont transformés par l'ammoniaque à 100° C. en acide succinamique et en monoanilide succinique.

c) L'hydrolyse partielle des aniles aconitiques en anilides par les solutions de carbonate neutre de sodium à 100° C. semble être un cas particulier :

Les aniles citriques ne sont pas attaqués dans ces conditions, et nous n'avons pas retrouvé d'exemple d'utilisation du carbonate neutre de sodium comme agent d'hydrolyse des imides ou des aniles.

2. — ACTION DES DESHYDRATANTS SUR LES ANILIDES CITRIQUES

Il a déjà été dit que la chaleur, l'acide sulfurique, le pentachlorure de phosphore ne provoquaient pas la cyclisation des anilides citriques en dérivés quinoléiques. En effet la fonction alcool tertiaire de l'acide citrique ne peut se comporter comme un carbonyle. Les alcools tertiaires

(1) Nous n'avons pas trouvé dans la littérature la valeur de la troisième constante de dissociation de l'acide aconitique. Le chiffre que nous indiquons est le résultat de notre expérimentation personnelle.

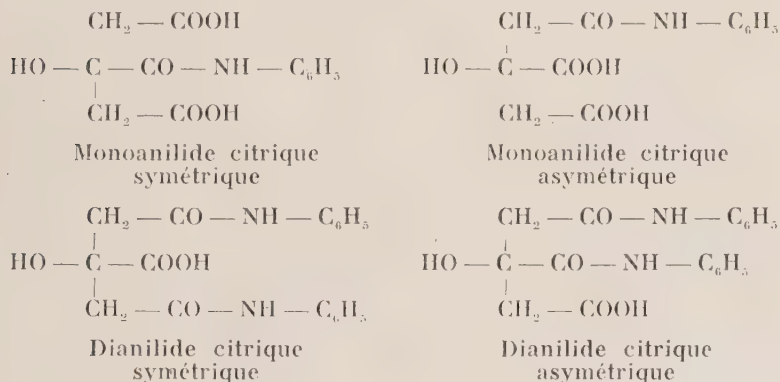
SKINNEY et RUHEMANN. *J. Chem. Soc.*, **55**, 235, (1889).

sont caractérisés par leur tendance à perdre une molécule d'eau pour donner les carbures éthyléniques et il était prévisible que la déshydratation des anilides citriques conduirait aux aniles aconitiques.

3) ISOMÉRIES

A) Dérivés de l'Acide citrique.

Si la constitution des aniles citriques est établie sans discussion par l'existence d'un cycle pentagonal dans la molécule, le dianilide et le monoanilide citriques peuvent, à priori, exister sous les deux formes symétriques et asymétriques représentées ci-dessous :



Ces isoméries n'ont été étudiées, à notre connaissance, par aucun de nos devanciers : le monoanilide et le dianilide citrique sont représentés par leurs formules brutes.

Toutefois, quel que soit son mode de préparation, par condensation de deux molécules d'aniline sur l'acide citrique ou par hydrolyse ammoniacale du citrylanililide, le dianilide citrique présente toujours les mêmes caractères physiques et il ne nous a pas été possible d'isoler les deux formes prévisibles, par cristallisation dans l'eau ou l'alcool à 95° et par précipitation à l'aide de différents sels métalliques.

Il en est de même du monoanilide citrique préparé soit par déshydratation du citrate monoanilique, soit par hydrolyse ammoniacale de l'acide citrylanile-carboxylique.

Nous n'avons donc préparé qu'une seule forme de ces dérivés.

a) Etudiant les esters éthyliques de l'acide citrique, WOLFRUM et PINNOW (63) ont déterminé colorimétriquement les coefficients d'ionisation des esters diéthyliques et monoéthyliques, symétriques et asymétriques :

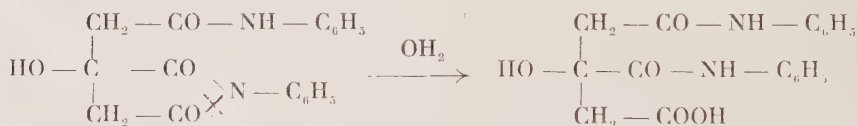
Les valeurs des constantes de dissociation de l'ester diéthylique symétrique et de l'ester monoéthylique asymétrique sont très voisines et environ *quatre fois plus élevées* que celles de l'ester diéthylique asymétrique et de l'ester monoéthylique symétrique.

Les constantes de dissociation des esters diéthyliques et monoéthyliques de l'acide citrique dépendent donc moins du nombre que de la position du ou des carboxyles libres.

Nous inspirant de ces résultats, nous avons déduit de la comparaison des constantes de dissociation de l'acide citrylanile-carboxylique et du dianilide citrique ($3,5 \times 10^{-6}$ et $2,5 \times 10^{-6}$) que le seul carboxyle libre existant dans ces deux corps doit avoir la même position.

La constitution de l'acide citrylanile-carboxylique étant établie par la structure pentagonale du cycle imidé, le dianilide citrique isolé est le dérivé asymétrique.

b) Si l'hydrolyse ménagée du citrylanilide conduit exclusivement au dianilide citrique asymétrique, l'ouverture du cycle phénylimide s'effectue dans ces conditions au niveau du carboxyle lié au groupement méthylénique.



Dans les mêmes conditions, l'hydrolyse ménagée de l'acide citrylanile-carboxylique doit donc conduire au monoanilide citrique symétrique. La comparaison des valeurs des constantes de dissociation du monoanilide citrique ($6,4 \times 10^{-6}$ et $1,1 \times 10^{-6}$) et de l'acide citrylanile-carboxylique ($3,5 \times 10^{-6}$) confirme nos déductions.

Nous avons donc préparé le dianilide citrique asymétrique et le monoanilide citrique symétrique.

Le dianilide citrique symétrique et le monoanilide asymétrique ne se forment pas par condensation de l'aniline

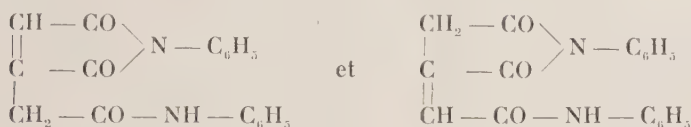
sur l'acide citrique ou par hydrolyse partielle des dérivés anilés de l'acide citrique (1).

B) Dérivés de l'Acide aconitique.

I. ANILES ACONITIQUES.

Leur constitution n'est pas entièrement établie par la caractérisation d'un cycle pentagonal dans leur molécule. Il faut encore déterminer la position de la double liaison.

L'aconitylanilamide par exemple peut être représenté par les deux formules suivantes :



SKINNEY et RUHEMANN (57) ont attribué la différence de comportement des aniles citriques et aconitiques par rapport aux agents d'hydrolyse, en particulier l'ammoniaque, à la présence d'une liaison éthylénique dans le cycle phénylimide des aniles aconitiques.

Nous n'avons retrouvé que très partiellement leurs résultats ; cependant l'ammoniaque et surtout le carbonate neutre de sodium réagissent sur les aniles citriques et aconitiques de façon très différente, ce qui pourrait tenir à la présence d'une liaison éthylénique dans le cycle phénylimide.

La position de cette double liaison semble difficile à préciser par voie chimique : nous n'avons pu oxyder les aniles aconitiques sans destruction de toute la molécule.

L'étude des spectres Raman résoudrait probablement ce problème. Il nous a malheureusement été impossible de la réaliser.

(1) WOLFRUM et PINNOW (63) ont également constaté que l'hydrolyse ménagée de l'ester triéthylrique de l'acide citrique conduit *exclusivement*, suivant les quantités de soude utilisées, à l'ester diéthylrique asymétrique et à l'ester monoéthylrique symétrique. Ces résultats concordent avec nos conclusions.

SKINNEY et RUHEMANN. *J. Chem. Soc.*, **55**, 235, (1889).

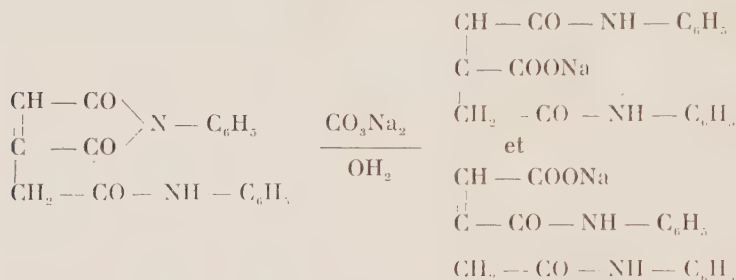
WOLFRUM et PINNOW. *J. Prakt. Chem.*, **97**, 23, (1918).

II. ANILIDES ACONITIQUES

a) Dianilide aconitique :

En faisant réagir une solution aqueuse de carbonate neutre de sodium sur l'aconitylanililide, nous avons obtenu le dianilide aconitique sous deux formes isomères fondant respectivement à 202° et 173° C.

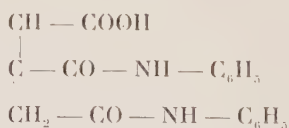
La réaction du carbonate neutre de sodium sur l'aconitylanililide peut s'écrire indifféremment :



Il est possible d'obtenir à l'état de sel de sodium, soit l'acide aconitique α - γ dianilidé, soit l'acide aconitique β - γ dianilidé.

Cependant, les valeurs des constantes de dissociation des deux isomères isolés sont presque identiques : $1,3 \times 10^{-4}$ et $1,0 \times 10^{-4}$.

Nous en avons déduit qu'il n'y a pas d'isomérisie de position : les deux isomères sont représentés par la même formule (1).



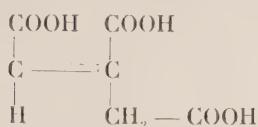
Mais en dehors des isomérisies de position, MALACHOWSKI et MALOWSKI (40) ont démontré l'existence dans les dérivés aconitiques d'isomérisies cis-trans, créées par la liaison éthylénique.

(1) Cette formule tient compte de la possibilité de deshydratation des anilides citriques en anilides aconitiques.

Le dianilide citrique étant le dérivé asymétrique, les dianilides aconitiques isomères, ne peuvent être représentés autrement.

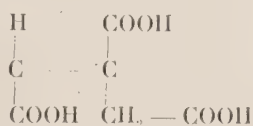
MALACHOWSKI et MALOWSKI. *Ber. D. Chem. Ges.*, **61 B**, 2521, (1928).

L'acide aconitique peut être représenté conventionnellement par les deux formules :



Acide cis-aconitique
(P.F. : 125°C)

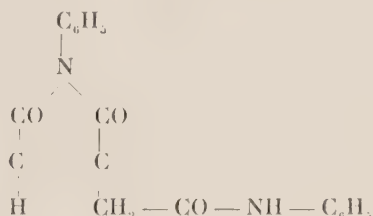
et



Acide trans-aconitique
(P.F. : 194°C)

Dans la préparation de l'acide aconitique par déshydratation de l'acide citrique à chaud par l'acide sulfurique, on obtient exclusivement l'acide trans-aconitique, forme la plus stable.

Nous avons donc préparé les anilides et aniles aconitiques à partir de cet acide, mais l'aconitylanilanilide se ratâche obligatoirement à la forme cis- (les deux carboxyles étant liés au même azote) :



L'ouverture du cycle phénylimide de l'aconitylanilanilide devrait donc conduire exclusivement au dianilide cis-aconitique.

Or nous avons toujours isolé, par cristallisation fractionnée, deux fractions dont la plus importante (jusqu'à 80 p. 100) est constituée par le dianilide aconitique fondant à 202° C. (trans). Au cours de l'hydrolyse partielle de l'aconitylanilanilide, en particulier au cours du chauffage, il doit se réaliser un équilibre entre les deux formes possibles, équilibre dont l'existence a été démontrée par MALACHOWSKI (39) dans les solutions aqueuses d'acide aconitique.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons chauffé à 125° C. pendant 1 heure 5 grammes du dérivé cis fondant à 173° C. (à cette température, l'acide cis-aconitique est intégralement transformé en acide trans-aconitique au bout d'une heure, (MALACHOWSKI (39)).

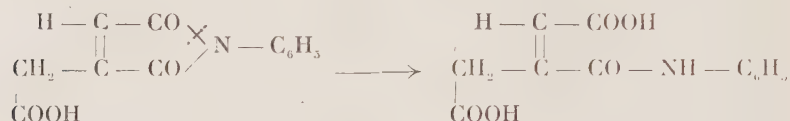
Le produit de la réaction a été dissous dans le minimum d'alcool à 95° bouillant. La solution refroidie à la glacière, laisse déposer de fines aiguilles incolores.

Lavés à l'éther, séchés à 100° C., ces cristaux fondent à 201° C. et présentent les caractères physiques et chimiques du dianilide aconitique.

Nous avons donc bien isolé les deux isomères cis et trans du dianilide aconitique.

b) *Monoanilide aconitique* :

Si l'hydrolyse ménagée de l'aconitylanilide conduit exclusivement à l'acide aconitique β - γ dianilidé, l'acide aconitylanile-carboxylique doit donner, dans les mêmes conditions, l'acide aconitique β monoanilidé :



Nous n'avons pu isoler, par cristallisation fractionnée, les formes cis et trans de ce dérivé.

Au cours du chauffage que nécessite l'hydrolyse partielle de l'acide aconitylanile-carboxylique, il est vraisemblable que la forme cis du monoanilide aconitique se transforme en dérivé trans-aconitique et que le point de fusion (181° C.) correspond au monoanilide trans-aconitique.

SECONDE PARTIE

Etude de quelques propriétés physiologiques des anilides et aniles citriques et aconitiques

Une étude complète des propriétés physiologiques d'un anilide implique, *à priori*, les recherches suivantes :

1. Toxicité aiguë et chronique.
2. Action méthémoglobinisante.
3. Vitesses d'absorption et d'élimination de l'aniline et de ses métabolites éventuels (ou la détermination des coefficients toxicologiques — hémikrèse et protorrhée — préconisés par LAPP (34-35)).
4. Localisation dans les tissus.
5. Propriétés thérapeutiques : en particulier, l'action analgésique et l'action antipyrétique.

De ce programme très vaste, nous ne retiendrons ici que l'étude des actions méthémoglobinisantes et antipyrétiques des anilides et aniles citriques et aconitiques.

Le dianilide aconitique (1) nous ayant paru présenter un intérêt particulier, nous en ferons une étude plus approfondie.

(1) Nous n'avons expérimenté que l'isomère trans du dianilide aconitique qui est la forme la plus abondante obtenue par hydrolyse ménagée de l'aconitylanilide.

LAPP. *Ann. Pharm. Fr.*, **6**, 150, (1948). — *Ann. Pharm. Fr.*, **8**, 81, (1950).

CHAPITRE PREMIER

Action méthémoglobinisante des anilides et aniles citriques et aconitiques

1. — CHOIX DE L'ESÈCE ANIMALE

Il est admis que l'administration d'anilides est suivie de méthémoglobinémie, mais les taux de méthémoglobine peuvent être très variables. SZIGETTI (58) a montré qu'ils dépendent, entre autres facteurs, de l'espèce animale utilisée.

Récemment, LESTER (38) a étudié la formation de méthémoglobine chez l'homme, le chat, le chien, le rat, le lapin et le singe après ingestion d'une dose unique d'acétanilide. Voici ses conclusions :

1) Le chat est l'animal le plus sensible : 0,35 à 0,40 millimol. par Kg provoquent la transformation en méthémoglobine de 36 à 38 p. 100 de l'hémoglobine totale.

2) La réponse du chat étant représentée par 100, les réponses des autres espèces expérimentées sont de l'ordre de 50 à 60 pour l'homme, 30 pour le chien, 4 à 6 pour le rat. Les sensibilités respectives de ces différentes espèces sont donc égales à : 1, 0,5 à 0,6, 0,3, 0,05.

Chez le lapin et le singe, il n'y a pas de méthémoglobinémie après ingestion d'acétanilide. Chez l'homme, GREENBERG et LESTER (24-25-26) BRODIE et AXELROD (7) notent

SZIGETTI. *Vjschr. Gerichtl. Med.*, **3**, 9 (suppl.), (1893).

LESTER. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **77**, 154, (1943).

GREENBERG et LESTER. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **88**, 87, (1946).

GREENBERG et LESTER. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **90**, 68, (1947). — *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **90**, 150, (1947).

BRODIE et AXELROD. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **94**, 29 (1948).

un taux de méthémoglobininisation de 6 à 17,5 p. 100 après ingestion de 1 à 2 g d'acétanilide.

Nous inspirant de ces résultats, nous avons expérimenté sur nous-même les anilides citriques et aconitiques.

2. — DÉTERMINATION DU TAUX DE MÉTHÉMOGLOBINE

Nous avons utilisé la méthode d'EVELYN et MALLOY (18).

Principe :

a) La bande d'absorption caractéristique que présente la méthémoglobine à 635 m μ disparaît presque complètement par addition à la solution de méthémoglobine d'une solution de cyanure de sodium.

La diminution de l'opacité optique est directement proportionnelle à la concentration en méthémoglobine ; elle est facilement mesurable au spectrophotomètre.

b) La totalité de l'hémoglobine présente dans la solution est transformée en méthémoglobine cyanée dont le maximum d'absorption se situe à 540 m μ . La concentration du pigment est déterminée par la mesure de l'opacité optique à cette longueur d'onde.

Réactifs :

- 1) Tampon phosphate M/15 ajusté à pH 6,6.
- 2) Tampon phosphate M/60 (obtenu par dilution de la solution 1).
- 3) Solution de ferricyanure de potassium à 20 p. 100.
- 4) Solution de cyanure de sodium à 10 p. 100
- 5) Solution neutralisée de cyanure de sodium préparée extemporanément en mélangeant à parties égales :
Solution de cyanure de sodium à 10 p. 100.
Acide acétique à 12 p. 100.

Mode opératoire

Prélever au doigt 0,1 ml de sang, diluer dans 10 ml de tampon phosphate M/60. Attendre 5 minutes et faire une première lecture à 635 m μ après « tarage » de l'appareil sur la solution tampon. Soit L_1 la densité optique lue.

Ajouter à la solution une goutte de solution de cyanure de sodium neutralisée (réactif 5). Après 2 minutes, faire une nouvelle lecture à 635 m μ . Soit L_2 la densité optique ainsi déterminée.

La différence ($L_1 - L_2$) est proportionnelle à la concentration en méthémoglobine.

Diluer 2 ml de la solution sanguine au centième avec 8 ml de solution tampon phosphate M/15 (réactif 1). Ajouter une goutte de ferricyanure de potassium (réactif 3) et attendre 2 minutes pour que toute l'hémoglobine soit transformée en méthémoglobine. Ajouter alors une goutte de la solution neutralisée de cyanure de sodium (réactif 5) et 2 minutes après faire une lecture de l'absorption à 540 m μ .

Le témoin est réalisé par 10 ml de solution tampon phosphate M/15 contenant une goutte de la solution neutralisée de cyanure de sodium et une goutte de la solution de ferricyanure.

Soit L_3 la densité optique déterminée par cette dernière lecture.

Les valeurs des densités optiques L_1 , L_2 , L_3 sont fonction de l'appareil. Toutefois, en opérant dans des bandes suffisamment étroites du spectre (10 Å environ), ces valeurs sont directement proportionnelles aux concentrations des pigments.

C'est ce que nous avons vérifié avec le spectrophotomètre BECKMAN₂ modèle D.U., utilisé pour ces mesures.

L'étalonnage de l'appareil, à l'aide d'une solution pure d'hémoglobine, nous a permis d'établir les deux équations suivantes :

Hémoglobine totale (en g p. 100 ml de sang)

$$= \frac{100 \times L_3}{1,47}$$

Méthémoglobine (en g p. 100 ml de sang)

$$= \frac{100 (L_1 - L_2)}{1,71}$$

L'erreur dans la détermination des deux pigments est au plus égale à 0,2 g pour 100 ml.

3. — EXPÉRIMENTATION

L'anilide est ingéré le matin au réveil, sous forme de cachets avec 150 ml d'eau. Un jeûne total est observé depuis 12 heures et durant les 5 heures qui suivent l'administration.

L'emploi d'un « anilide de référence » s'imposait : nous avons choisi l'acétanilide (1 g et 2 g, voie orale). Les doses des autres anilides à ingérer ont été calculées de façon à ce

qu'elles apportent toutes une quantité d'aniline équivalente.

Le sang total est prélevé toutes les heures pendant les 4 premières heures, puis à la septième heure après l'ingestion.

Le prélèvement est immédiatement dilué au centième à l'aide de la solution tampon phosphate M/60 et protégé du contact de l'air par une légère couche d'huile de vaseline si le dosage n'est pas effectué immédiatement.

Un échantillon prélevé avant l'administration d'anilide constitue le témoin.

Nous avons toujours laissé s'écouler une période de repos de 2 à 3 jours entre chaque expérience.

Résultats

La méthémoglobine formée est maximum entre la deuxième et la quatrième heure ; la pointe se situe en général vers la troisième heure consécutive à l'ingestion d'anilide :

Nous n'avons pas observé de proportionnalité nette entre la dose ingérée et la quantité de méthémoglobine formée. Les résultats obtenus sont d'ailleurs consignés dans le tableau ci-contre (page 85).

De ces chiffres, il ressort que :

1) Le monoanilide, le dianilide citrique et l'acide citrylanile-carboxylique sont assez peu méthémoglobinisants.

Les méthémoglobinémies observées sont environ la moitié de celles obtenues avec des doses équivalentes (1) d'acétanilide.

Le trianilide citrique et le citrylanilide ne sont pas méthémoglobinisants aux doses expérimentées.

2) L'ingestion des anilides et aniles aconitiques ne provoque dans tous les cas, qu'une méthémoglobinémie très faible ou nulle.

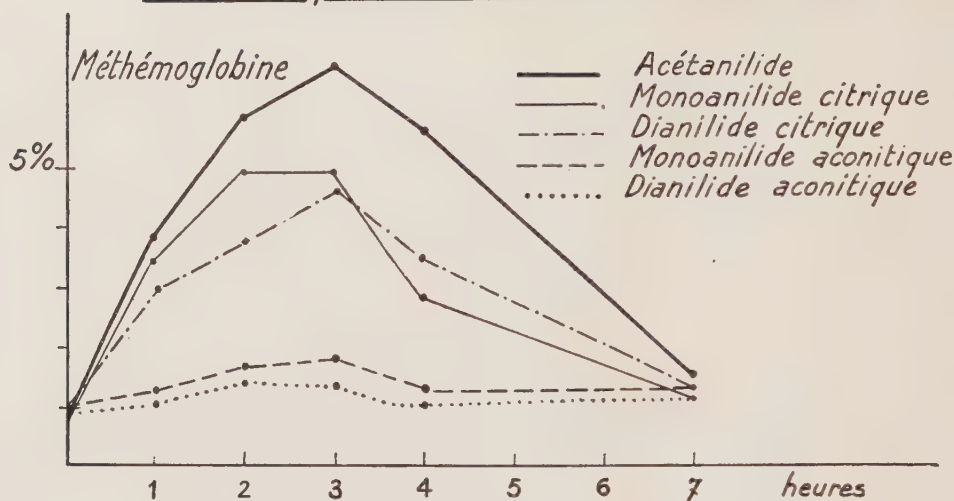
Les graphiques de la figure N° 6 permettent une comparaison plus facile des effets méthémoglobinisants de l'acétanilide, des monoanilides et dianilides citriques et aconitiques (page 86).

(1) Quantités d'anilides apportant des doses égales d'aniline.

MÉTÉMOGLOBINISATION PAR LES ANILIDES

	Doses ingérées en g	Hémoglobine en g p. 100 ml	Méthémoglobinémie exprimée en p. 100 de l'hémoglobine totale						
			Témoins	1 heure après	2 heures après	3 heures après	4 heures après	7 heures après	Aug. max. de la méthémo- globinémie
Acétanilide	1	16,3	0,8	3,9	5,8	6,7	5,6	1,6	5,9
	2	16,8	0,7	5,1	9,7	11,6	8,9	2,1	10,9
Trianilide citrique.	1,02	16,4	0,8	0,9	0,8	0,8	0,8	—	0
	2,05	16,4	0,9	1,0	0,9	0,9	0,9	—	0
Dianilide citrique..	1,25	16,0	1,0	3,0	3,8	4,7	3,5	1,4	3,7
	2,50	16,6	1,1	3,6	4,2	6,6	6,3	1,8	5,5
Monoanilide citri- que	1,95	16,4	0,9	3,5	4,9	4,9	2,8	1,2	4,0
	3,90	16,7	1,0	4,7	7,6	7,4	3,9	1,3	6,6
Acide citrylanile- carboxylique	1,80	16,5	1,3	1,7	1,8	2,4	1,8	1,1	1,1
	3,60	16,2	0,9	1,9	2,2	2,2	1,6	1,2	1,3
Citrylanilanilide ...	1,19	16,4	1,0	1,2	1,2	1,0	1,0	—	0
	2,38	16,3	1,2	1,1	1,2	1,1	1,1	—	0
Trianilide aconiti- que	0,97	16,3	0,9	1,0	0,9	0,9	0,8	—	0
	1,94	16,6	1,1	1,0	1,0	1,1	0,9	—	0
Dianilide aconitique	1,18	16,8	0,9	1,2	1,3	1,3	1,1	1,1	0,4
	2,36	16,6	0,9	1,1	1,4	1,3	1,2	—	0,5
Monoanilide aconiti- que	1,82	16,6	1,0	1,3	1,7	1,8	1,3	1,3	0,8
	3,64	16,2	0,8	1,4	1,4	1,9	1,8	1,5	1,1
Acide aconitylanil- carboxylique	1,70	16,4	0,8	0,8	0,4	0,3	0,8	—	0
	3,40	16,3	0,8	0,8	0,8	0,9	0,8	—	0
Aconitylanilanilide..	1,12	16,5	1,0	1,0	1,2	1,0	1,0	—	0
	2,24	16,6	0,9	1,1	1,1	1,1	1,1	—	0

Doses équivalentes à 1g d'acétanilide



Doses équivalentes à 2g d'acétanilide

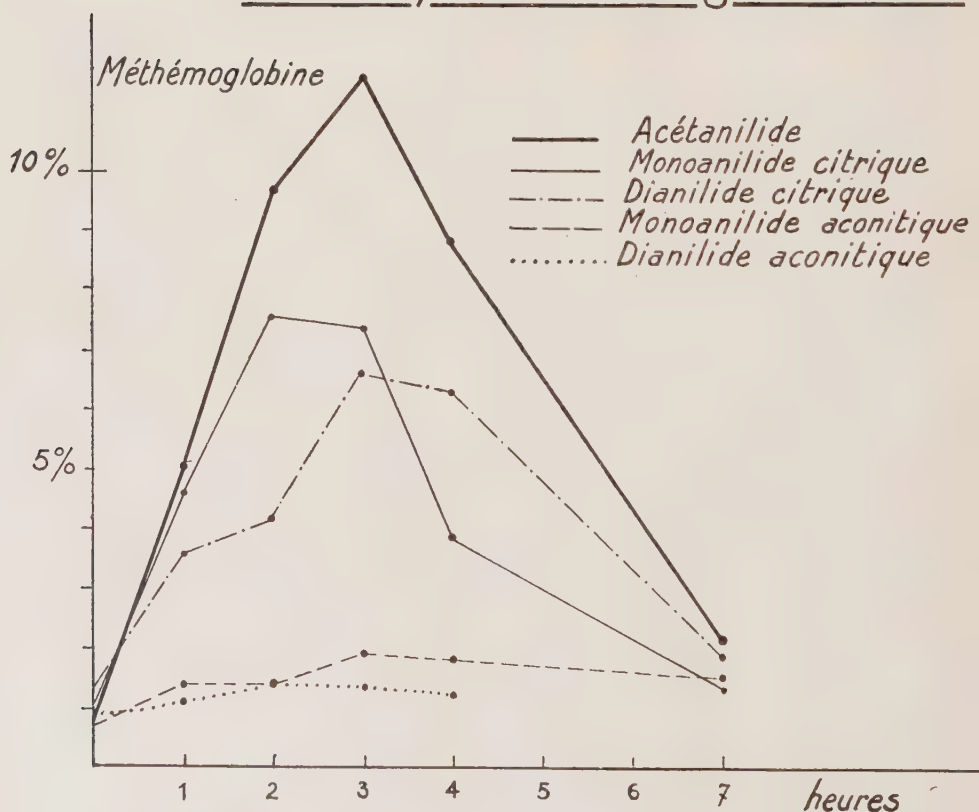


FIG. 6

Méthémoglobininisation par les anilides.

CHAPITRE II

Action sur la température corporelle des anilides et aniles citriques et aconitiques

HAZARD (27) désigne sous le nom d'antithermique tout corps qui abaisse la température normale d'un homéotherme et réserve la dénomination d'*antipyrétique* à celui qui sans modifier sensiblement la température normale combat les pyraxies, c'est-à-dire les températures anormalement élevées.

Déjà, en 1935, SIVADJIAN (56) constatait que « l'action d'un antipyrétique paraît d'autant plus accentuée que la température initiale de l'animal est plus élevée ».

Dans l'étude de l'action d'une substance sur la température, il y a donc lieu de préciser comme l'a fait G. BILLIEMAZ (4) :

- 1) ses effets sur la température de l'animal à l'état normal.
- 2) son action sur l'hyperthermie expérimentale.

1. — CHOIX DE L'ESPECE ANIMALE

Il est classique de s'adresser au lapin. Le choix de cet animal est d'ailleurs imposé par les Pharmacopées française et américaine pour la recherche des substances pyrogènes dans les préparations injectables.

Cependant, l'instabilité du système thermo-régulateur du lapin est bien connue : de nombreux facteurs entrent en jeu,

HAZARD. *Précis de Thérapeutique et Pharmacologie*, p. 72. Masson, Ed., 1950.

SIVADJIAN. *Les fièvres et les médicaments antithermiques*; Hermann et Cie, Ed., Paris, 1935.

BILLIEMAZ G. *Thèse Doct. Univ. Lyon*, 1951.

tels que l'immobilité de l'animal, la nourriture qu'il reçoit, la température ambiante etc..

Tous les auteurs s'accordent néanmoins pour admettre qu'en opérant dans des conditions bien déterminées (1), les variations de température sont peu importantes.

Nous avons utilisé des lapins mâles de 2 à 3,5 kg placés en cages individuelles et soumis à un régime normal.

La température « moyenne » de chaque animal est déterminée en prenant la température 4 fois de suite, à 1 heure d'intervalle et pendant 3 à 4 jours consécutifs (2). Elle est très voisine de 39,2°C.

Au moment des expériences, la température ne doit pas s'écarter de plus ou moins 0,4°C. de la température moyenne. Dans le cas contraire, le sujet est éliminé des expériences du jour. Les animaux sont privés de nourriture pendant les essais qui se déroulent dans une pièce attenante au clapier. Les conditions de température et d'humidité sont donc pratiquement constantes et les manipulations réduites au minimum.

2. — RÉALISATION D'UNE HYPERTHERMIE EXPÉRIMENTALE

Nous avons choisi pour provoquer une hyperthermie expérimentale chez le lapin l'injection intraveineuse de vaccin antityphique, suspension de bacilles typhiques à une concentration de 400 millions de germes par millilitre. Les hyperthermies provoquées par les agents bactériens semblent en effet très comparables à celles que présentent la majorité des malades dont l'état nécessite l'usage des antipyrétiques. HAZARD (27) pense d'ailleurs qu'on peut rapporter les causes d'un dérèglement de l'appareil thermo-régulateur, « à la présence dans le sang de substances pyrétogènes, produits de sécrétion des organismes inférieurs, microbes ou protozoaires ».

(1) Nous avons emprunté les détails techniques que nous rapportons au cours de chapitre, aux travaux de DORCHE et BOUTHIÉ (15) et aux thèses de BOUTHIÉ (5) et G. BILLIÉMAZ (4).

(2) Ces mesures ont été réalisées avec un thermomètre à cobaye. Les lectures ont été faites in situ après introduction du thermomètre à une profondeur de 75 à 80 mm. au delà du sphincter anal.

HAZARD. *Précis de Thérapeutique et Pharmacologie*, p. 74. Masson Ed., Paris (1950).

DORCHE et BOUTHIÉ. *Ann. Pharm. Fr.*, 7, 267, (1949).

BOUTHIÉ. *Thèse Doct. Pharm. Univ. Lyon*, (1951).

BILLIÉMAZ G. *Thèse Doct. Pharm. Univ. Lyon*, (1951).

L'injection est réalisée dans la veine marginale de l'oreille. Le volume injecté est de 0,5 ml par kg d'animal. L'animal est remis dans sa cage aussitôt après.

Les températures rectales sont prises :

a) avant l'injection (cette première mesure représente la température témoin à partir de laquelle la valeur de l'hyperthermie éventuelle sera déterminée).

b) 1 heure, 1 heure 30 minutes, 2 heures et 3 heures après l'injection. L'hyperthermie atteint toujours son maximum au bout de 90 minutes, mais tous les lapins ne répondent pas de façon identique à l'injection de doses équivalentes de vaccin antityphique (1). Nous n'avons pu constater aucune hyperthermie sur deux de nos animaux, les trois autres nous ont donné les résultats suivants :

Hyperthermies constatées en °C.

	1 heure après	1. h. 1/2 après	2 heures après	3 heures après
Lapin N° 1...	1,0	1,3	0,8	0,3
Lapin N° 2...	1,6	1,7	1,5	0,8
Lapin N° 3...	1,2	1,5	1,0	0,4

Le lapin ne semble pas présenter d'accoutumance aux préparations pyrogènes d'origine microbienne, ce qui est en accord avec ce que disent BANKS (2) et surtout WELCH et ses collaborateurs (61), le lapin conservant selon ces auteurs *la même réceptivité* malgré de nombreuses injections de solutions pyrogènes (2).

Nos résultats personnels autorisaient aussi l'utilisation des mêmes animaux pour l'étude de ces produits. Nous avons toutefois laissé s'écouler entre deux expériences une période de 3 jours au minimum.

(1) Dans sa thèse, BOUTHER (5) a signalé l'insensibilité apparente de certains animaux aux injections de suspensions de bacilles typhiques.

(2) Cette opinion a été tout dernièrement controversée par TENNENT et OTT. *J. Am. Pharm. Ass. Sc. Ed.*, **42**, 614, (1953).

BANKS. *Am. J. Clin. Path.*, **4**, 260, (1934).

WELCH, CALVERY, MC CLOSKEY et PRICE. *J. Am. Pharm. Ass. Sc. Ed.*, **32**, 65, (1943).

BOUTHER. *Thèse Doct. Pharm. Univ. Lyon*, (1949).

3. — ACTION DES ANILIDES ET ANILES CITRIQUES ET ACONITQUES SUR LA TEMPÉRATURE DU LAPIN

A) Action sur la température normale.

Chaque expérience a été faite sur 3 lapins.

Les substances, en suspension dans une solution aqueuse à 2 p. 100 de gomme arabique ont été administrées per os en une seule dose au moyen d'une seringue fonctionnant en goutte à goutte placée latéralement dans la gueule du lapin. Le volume ingéré n'a jamais dépassé 5 ml.

L'acétanilide que G. BILLIEMAZ (4) a déjà expérimenté dans les mêmes conditions a été choisi comme anilide de référence et son activité déterminée à la dose de 0,15 g par kg d'animal. Les doses d'anilides et d'aniles citriques et aconitiques administrées ont été calculées de façon qu'elles apportent des quantités équivalentes d'aniline.

Les températures rectales ont été mesurées avant l'ingestion de substance (température témoin) et 1 heure, 1 h. 30 et 2 h. 30 après.

B) Action sur l'hyperthermie provoquée.

L'expérimentation se conduit de façon identique :

Une demi-heure avant l'administration d'anilide, chaque lapin reçoit par voie intra-veineuse 0,5 ml par kg de vaccin antityphique titrant 400 millions de germes par ml. Les températures rectales sont mesurées avant l'injection (température témoin) et 1 heure, 1 h. 30 et 2 h. 30 après l'ingestion du produit, soit 1 h. 30, 2 heures et 3 heures après l'injection pyrogène.

Nos résultats sont réunis dans les tableaux suivants.

*ACTION SUR LA TEMPÉRATURE NORMALE DES ANILIDES
ET ANILES CITRIQUES ET ACONITIQUES CHEZ LE LAPIN*

	Doses en g/kg	Variations de la température en °C.			Moyenne des varia- tions maximum de la température
		1 heure après ingestion	1 h. 30 après ingestion	2 h. 30 après ingestion	
Acétanilide	0,15	— 0,2 — 0,3 — 0,3	— 0,3 — 0,3 — 0,5	— 0,4 — 0,4 — 0,5	— 0,43
Trianilide citrique	0,16	0 0,1 0,1	0 0,1 0,2	0,1 0,1 0,1	0,13
Dianilide citrique	0,19	— 0,3 — 0,4 — 0,3	— 0,2 — 0,4 — 0,4	— 0,3 — 0,2 — 0,3	— 0,37
Monoanilide citri- que	0,30	— 0,3 — 0,2 — 0,4	— 0,2 — 0,2 — 0,3	— 0,3 — 0,3 — 0,3	— 0,33
Acide citrylanile- carboxylique	0,27	— 0,2 0 — 0,1	— 0,1 0 0	— 0,1 0,1 0	— 0,07
Citrylanililide	0,18	0 0 0,1	0,1 0 0,1	0,1 0 0,2	0,10
Trianilide aconiti- que	0,14	0,1 0,1 0	0,1 0 0	0 0,1 0	0,07
Dianilide aconitique	0,18	— 0,6 — 0,3 — 0,3	— 0,4 — 0,3 — 0,4	— 0,4 — 0,3 — 0,3	— 0,43
Monoanilide aconi- tique	0,27	— 0,3 — 0,3 — 0,2	— 0,2 — 0,4 — 0,3	— 0,3 — 0,3 — 0,3	— 0,33
Acide aconitylanile- carboxylique	0,26	0 — 0,1 — 0,2	— 0,1 — 0,1 — 0,2	0 — 0,1 — 0,1	— 0,13
Aconitylanililide	0,17	0,1 0,2 0,1	0 0,1 0,1	0 0,1 0,1	0,13

*ACTION SUR L'HYPERTHERMIE PROVOQUÉE DES ANILIDES
ET ANILES CITRIQUES ET ACONITIQUES CHEZ LE LAPIN*

	<i>Doses en g/kg</i>	<i>Hyperthermies en °C</i>			<i>Moyenne des hyperthermies maximum</i>
		<i>1 h. 30 après injection</i>	<i>2 heures après injection</i>	<i>3 heures après injection</i>	
Acétanilide	0,15	0,4 0 0,3	0,3 0,1 0,2	— 0,1 — 0,3 0	0,27
Trianilidè citrique	0,16	1,2 1,0 1,5	1,0 1,3 1,3	0,7 0,9 0,7	1,33
Dianilide citrique	0,19	— 0,3 0,1 0,4	— 0,1 0,5 0,3	0 0,2 0,3	0,29
Monoanilide citri- que	0,30	0,5 0,2 0,4	0,3 0,2 0,1	0,4 0,2 0,2	0,37
Acide citrylanile- carboxylique	0,27	0,9 0,7 1,2	0,7 0,4 1,0	0,6 0,4 0,6	0,90
Citrylanililide	0,18	1,4 1,5 1,1	0,9 0,9 0,8	0,7 0,4 0,6	1,33
Trianilide aconiti- que	0,14	1,3 1,3 1,1	0,9 1,1 0,7	0,7 0,5 0,4	1,23
Dianilide aconitique	0,18	0,2 0,1 0,5	0,1 0,1 0,4	0,3 0,2 0,3	0,33
Monoanilide aconi- tique	0,27	0,2 0,4 0,5	0,1 0,5 0,3	0,3 0,3 0,4	0,43
Acide aconitylanile- carboxylique	0,26	1,1 0,8 0,5	0,7 0,8 0,6	0,6 0,7 0,6	0,83
Aconitylanililide	0,17	1,6 1,1 1,5	1,0 1,1 0,7	0,8 0,7 0,4	1,4

4. — RÉSULTATS

A) Action sur la température normale.

Seules des variations importantes de température peuvent être retenues. En effet, DORCHE et BOUTHER (15) ont rapporté que l'amplitude moyenne des variations *normales* de température chez le lapin était de $0,18^{\circ}\text{C}$., le maximum d'écart pouvant exceptionnellement atteindre $0,5^{\circ}\text{C}$.

Nous référant aux statistiques de M. CASTAING (10) nous admettons avec G. BILLIÉMAZ (4) que $0,3^{\circ}\text{C}$. représente la limite probable des variations spontanées de température.

Dans ces conditions :

a) Peuvent être considérés comme légèrement « hypothermisants » chez le lapin :

Le dianilide citrique à $0,19\text{ g/kg}$

Le dianilide aconitique à $0,18\text{ g/kg}$.

b) Les hypothermies ($- 0,33^{\circ}\text{C}$.) consécutives à l'ingestion de $0,27\text{ g/kg}$ et de $0,30\text{ g/kg}$ des monoanilides aconitique et citrique sont très voisines de la limite de $0,3^{\circ}\text{C}$. et leur signification est discutable.

c) Aux dosages utilisées, les autres corps se sont révélés pratiquement sans action sur la température normale du lapin.

B) Action sur l'hyperthermie provoquée.

Pour apprécier l'activité des médicaments antipyrétiques, G. BILLIÉMAZ (4) s'est fixé une règle numérique qui s'appuie sur les données des Pharmacopées en matière de solutés pyrogènes. Nous avons adopté les conclusions de cet auteur qui tiennent compte des variations normales de température chez le lapin :

« Nous pouvons considérer un médicament antipyrétique comme actif, si à la suite de son administration par voie buccale à trois lapins rendus fébricitants par injection intra-

DORCHE et BOUTHER. *Ann. Pharm. Fr.*, 7, 267, (1949).

CASTAING M. *Thèse Doct. Pharm. Univ. Lyon*, (1951).

BILLIÉMAZ G. *Thèse Doct. Pharm. Univ. Lyon*, (1951).

veineuse d'une suspension pyrogène, la moyenne des hyperthermies maxima constatées est inférieure ou égale à $0,47^{\circ}\text{C}$. (deux lapins sur trois ayant une élévation de température inférieure à $0,6^{\circ}\text{C}$.) ».

Dans ces conditions, peuvent être considérés comme actifs :

Le dianilide aconitique à 0,18 g/kg

Le dianilide citrique à 0,19 g/kg

Le monoanilide aconitique à 0,27 g/kg

Le monoanilide citrique à 0,30 g/kg

Les autres produits sont sans action, aux doses expérimentées, sur l'hyperthermie provoquée par les pyrogènes typhiques.

CHAPITRE III

Etude particulière du dianilide aconitique

De tous les anilides étudiés, le dianilide aconitique est le seul qui possède à la fois une activité antipyrétique marquée et une action méthémoglobinisante pratiquement nulle.

Ces propriétés le différencient de l'acétanilide comme de la plupart des dérivés de l'aniline (1) ce qui nous a incité à compléter nos investigations par l'étude de sa toxicité et de son métabolisme.

A. — ESSAIS DE TOXICITÉ. RECHERCHE D'UNE DOSE TOXIQUE

La formation de méthémoglobine est souvent considérée comme un important facteur de la toxicité de l'aniline et de ses dérivés. Devions nous considérer l'absence de méthémoglobinémie consécutive à l'administration de dianilide aconitique comme excluant à priori l'existence d'une toxicité ? C'eut été aller trop loin. LESTER (38) a montré en effet que

(1) « L'abaissement de température produit par l'aniline et ses dérivés semble être rattaché, d'une part, à la diminution de la capacité respiratoire avec ses conséquences inévitables sur les phénomènes de combustion organique, d'autre part, à une action directe de la substance toxique sur les centres nerveux ». (HAZARD, 27).

LESTER. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **77**, 154, (1943).

HAZARD. *Précis de Thérapeutique et Pharmacologie*, p. 607. Masson Ed., Paris, (1950).

la toxicité des anilides pour les différentes espèces, ne dépend pas de la méthémoglobinémie qu'ils provoquent. L'acétanilide par exemple n'est pas méthémoglobinisant chez le singe et le lapin, même aux doses léthales ; au contraire, chez l'homme et le chat, il peut provoquer une forte méthémoglobinémie sans que soient atteintes les doses toxiques.

Nous avons donc cherché à réaliser une intoxication aiguë chez le rat et le chien à l'aide de très fortes doses de dianilide aconitique administré par différentes voies.

a) *Voie orale :*

1) *Essais sur le rat :*

Les essais ont porté sur 3 rats mâles adultes de 180 à 200 g. Le dianilide aconitique, en suspension aqueuse, a été introduit directement dans l'estomac des animaux à l'aide d'une sonde semi-rigide montée sur une seringue. Nous avons fait deux séries d'expériences, les doses ingérées étant de 5 et 10 g/kg. Elles n'ont provoqué aucun effet toxique, en particulier ni perte de poids, ni modification de la formule sanguine.

2) *Essais sur le chien :*

L'administration orale de dianilide aconitique en suspension aqueuse, à la dose de 10 g/kg n'a entraîné aucun accident toxique chez un chien mâle de 20 kgs.

Dans toutes les expériences, une importante quantité de produit est rapidement éliminé par les fèces.

b) *Voie intra-veineuse :*

Les essais ont été pratiqués sur le chien.

Injecté à l'état de sel de sodium en solution aqueuse à 5 p. 100, le dianilide aconitique paraît sans toxicité par voie intra-veineuse à la dose de 0,12 g/kg.

Nous n'avons pu expérimenter de doses plus élevées en raison de la faible solubilité du dianilide aconitique, et dans ces conditions il ne nous a pas été possible de déterminer les doses léthales de ce corps.

Nous n'avons pas cru devoir poursuivre cette recherche en utilisant d'autres espèces animales ou d'autres voies d'introduction du produit.

B. — ETUDE DU MÉTABOLISME DU DIANILIDE ACONITIQUE

1) Hydrolyse enzymatique du dianilide aconitique.

Avant d'étudier le sort du dianilide après son introduction dans l'organisme, il nous a paru opportun de préciser comment il se comporte, *in vitro*, en présence de tissus animaux.

MICHEL, F. BERNHEIM et M. BERNHEIM (44) ont montré que l'acétanilide est rapidement hydrolysé en acide acétique et aniline, *in vitro*, par de nombreux tissus animaux, en particulier le foie et le rein.

En utilisant leur mode opératoire, nous avons comparé l'action hydrolysante de ces tissus sur l'acétanilide et dianilide aconitique :

Le foie d'un rat mâle adulte est finement broyé au mortier avec du sable et 20 ml de sérum physiologique. La suspension tissulaire a été répartie comme suit dans 4 tubes à essais :

Tube N° I	Solution de dianilide aconitique à 1 p. 1000 Solution tampon de phosphates à à pH 6,0 Suspension de foie	} àâ 5 ml
Tube N° II	Solution de dianilide aconitique à 1 p. 1000 Solution tampon de phosphates à à pH 6,9 Suspension de foie	
Tube N° III	Solution de dianilide aconitique à 1 p. 1000 Solution tampon de phosphates à pH 7,8 (1) Suspension de foie	
Tube N° IV	Solution d'acétanilide à 1 p. 1000 Solution tampon de phosphates à pH 7,8 Suspension de foie	

Même mode opératoire pour les reins prélevés sur l'animal.

(1) pH optimum, d'après MICHEL, F. BERNHEIM et M. BERNHEIM pour l'hydrolyse enzymatique de l'acétanilide.

MICHEL, BERNHEIM F. et BERNHEIM J. J. *of Pharm. and Exptl Ther.*, 61 321, (1937).

Après un séjour de 18 heures à l'éluve à 37°C. on ajoute 10 ml d'acide trichloracétique à 15 p. 100 dans chaque tube pour précipiter les protéines. L'aniline est dosée dans le filtrat par colorimétrie (1).

Les résultats sont réunis dans le tableau suivant :

<i>Tissus</i>	<i>Anilide</i>	<i>pH du milieu</i>	<i>Aniline formée en mg</i>	<i>Anilide hydrolysé en p. 100</i>
foie	dianilide aconitique	6,0	0,003	0,1
»	dianilide aconitique	6,9	0,003	0,1
»	dianilide aconitique	7,8	0,015	0,7
»	acétanilide	7,8	3,175	92,0
rein	dianilide aconitique	6,0	0,0015	0,05
»	dianilide aconitique	6,9	0,0015	0,05
»	dianilide aconitique	7,8	0,0035	0,11
»	acétanilide	7,8	3,025	87,70

De ces chiffres, il ressort que le dianilide aconitique n'est pratiquement pas hydrolysé, in vitro, par ces tissus. Dans les mêmes conditions au contraire, l'acétanilide est presque totalement hydrolysé.

2) Recherches des métabolites éventuels du dianilide aconitique.

De nombreux schémas ont été proposés pour rendre compte du métabolisme des dérivés de l'aniline, de l'acétanilide en particulier.

Récemment, GREENBERG et LESTER (24) ont montré que l'acétanilide est transformé dans le sang surtout en paraminophénol que l'on retrouve dans l'urine sous forme de dérivés N-acétylés et hydroxyconjugés. L'acétanilide est

(1) Voir pages 24 et 99.

GREENBERG et LESTER. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **88**, 87, (1946).

excrété dans l'urine à un taux correspondant à 0,2-0,6 p. 100 de la dose administrée. Encore n'est-il retrouvé que dans les quatre premières heures de l'élimination. Ni le sang, ni l'urine ne contiendraient d'aniline libre. BRODIE et AXELROD (7) retrouvent aussi le paraminophénol combiné comme métabolite essentiel de l'acétanilide mais décèlent dans le sang et dans l'urine, chez l'homme, après ingestion d'acétanilide, de très faibles quantités d'aniline libre, ce qui est en contradiction avec les résultats précédents. Ces auteurs constatent une certaine corrélation entre le taux d'aniline plasmatique et la méthémoglobinémie.

D'autres métabolites de l'acétanilide, ont encore été signalés : en 1940, JUNG (31) a suggéré que la phénylhydroxylamine et le nitrosobenzène pouvaient bien être considérés comme deux métabolites, et, de fait, leur combinaison, l'azoxybenzène, a été retrouvée, en très faible quantité il est vrai, dans l'urine de l'homme, après ingestion d'acétanilide (GREENBERG et LESTER (25)).

Nous avons recherché si le dianilide aconitique se transformait de façon analogue dans l'organisme.

A) MÉTHODE D'ANALYSE.

Nous avons utilisé, légèrement modifiées, les méthodes préconisées par les différents auteurs cités précédemment.

a) Dosage de l'aniline.

1) Aniline libre :

Principe :

Extraction par le benzène (1) à $\text{pH} \geq 6$ et relargage de la solution benzénique par une solution d'acide chlorhydrique 0,1 N. L'aniline extraite est diazotée et copulée avec le thymol en milieu alcalin. L'azoïque, coloré en jaune, est extrait par le n-butanol et l'intensité de la coloration mesurée à 430 m μ à l'électrophotomètre de MEUNIER (2).

(1) D'après BRODIE et AXELROD (6), 98 % de l'aniline passe dans le benzène si le pH du milieu est compris entre 6 et 9.

(2) Cette méthode permet de négliger les substances extractibles du milieu biologique par des solvants organiques.

BRODIE et AXELROD. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **94**, 29 (1948).
JUNG. *Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, **195**, 208, (1940).

BRODIE et AXELROD. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **94**, 23 (1948).

Réactifs :

Solvant benzénique :

Benzène pur lavé (1) : 100 ml

Alcool isoamylique pur : 1,5 ml

Acide chlorhydrique concentré ($D = 1,18$)

Solution d'acide chlorhydrique 0,1 N

Solution de nitrite de sodium à 0,2 p. 100 (conservation une semaine environ)

Solution de sulfamate d'ammonium à 1 p. 100

Solution alcaline de thymol :

Thymol : 0,50 g

Solution de soude 0,1 N : 50 ml

(Conservation une semaine environ)

Butanol normal pur

Mode opératoire :

Dans une éprouvette de 60 ml bouchée à l'émeri, ajouter 5 ml de sang ou d'urine et 30 ml de solvant benzénique. Agiter 10 minutes. Laisser reposer et transférer 20 ml de la phase benzénique dans une éprouvette contenant 6 ml de solution d'acide chlorhydrique 0,1 N. Agiter 5 minutes. Eliminer la phase organique par aspiration et prélever 5 ml de la phase aqueuse acide. Les verser dans un tube à essais, ajouter 0,5 ml de la solution de nitrite de sodium ; après 10 minutes d'attente, ajouter 0,5 ml de la solution de sulfamate d'ammonium. Trois minutes après compléter à 10 ml à l'aide de la solution alcaline de thymol, ajouter 2 ml de n-butanol et agiter pendant 1 minute pour extraire l'azoïque formé. Eliminer la phase aqueuse et compléter exactement le volume à 3 ml avec de l'acide chlorhydrique concentré. Déterminer l'intensité de la coloration à 430 m μ sous une épaisseur de 25 mm. Les courbes d'étalonnage de cette réaction ont été réalisées à partir d'échantillons de sang et d'urine additionnés de quantités connues d'aniline.

La limite de sensibilité correspond à moins de 0.5 microgrammes d'aniline dans la prise d'essai (2).

*2) Aniline combinée :**Principe :*

Après hydrolyse acide, l'aniline totale est dosée colorimétriquement selon le mode opératoire décrit pour le dosage de l'aniline libre. La différence, entre la valeur

(1) Successivement par l'acide chlorhydrique 0,1 N, la soude 0,1 N et l'eau distillée.

L'alcool isoamylique ajouté a pour but de diminuer les absorptions de surface.

(2) L'extraction du colorant par le n-butanol est inutile en présence de quantités d'aniline supérieures à 3 microgrammes dans la prise d'essai : la colorimétrie peut être réalisée directement après addition de la solution alcaline de thymol.

trouvée et le taux d'aniline libre représente l'aniline combinée.

Réactifs :

Acide sulfurique (D = 1,84)
Solution de soude N

Mode opératoire :

Ajouter 1 ml d'acide sulfurique à 5 ml de sang ou d'urine éventuellement diluée. Porter à l'ébullition sous réfrigérant à reflux pendant 30 minutes (1). Neutraliser par la solution de soude et poursuivre le dosage comme pour la détermination de l'aniline libre.

b) *Dosage du paraminophénol total.*

Principe :

Les dérivés N- et hydroxy-conjugués du paraminophénol sont hydrolysés en milieu acide. Après extraction à l'éther et relargage par une solution d'acide chlorhydrique 0,1 N, le paraminophénol libéré est combiné avec l' α -naphtol en milieu alcalin. Il se forme un dérivé de l'indophénol fortement coloré en bleu.

Réactifs :

Chlorure stanneux cristallisé
Phosphate monoacide de potassium cristallisé
Acide chlorhydrique concentré (D = 1,18)
Solution d'acide chlorhydrique 0,1 N
Solution de soude à 30 p. 100

Solvant étheré :

Ether éthylique lavé (2) : 100 ml
alcool isoamylique pur : 1,5 ml

Solution d' α naphtol :

α naphtol pur resublimé : 5 g
Alcool à 95° : 100 ml
(Cette solution peut se conserver une semaine environ).

Mode opératoire :

Dans une éprouvette de 100 ml bouchée à l'émeri mesurer 5 ml de sang ou d'urine, 1 ml d'acide chlorhydrique concentré et 200 mg environ de chlorure stanneux pour prévenir une oxydation du paraminophénol. Maintenir l'éprouvette au bain-marie bouillant pendant une heure. Après refroidissement, introduire 5 g de phosphate monoacide de potassium, mélanger énergiquement et ajouter 50 ml de solvant étheré. Agiter 10 minutes, laisser reposer

(1) Lorsqu'on traite ainsi l'urine de sujets ayant ingéré du dianilide aconitique, elle se colore en brun-rouge au cours de l'hydrolyse. L'acétanilide produit un phénomène analogue.

(2) Voir note 1, page 100.

et transférer 40 ml de la phase étherée dans une éprouvette de 60 ml contenant 7 ml d'acide chlorhydrique 0,1 N. Agiter à nouveau pendant 5 minutes. A 5 ml de la phase aqueuse ajouter 2 gouttes de solution d' α -naphtol et 2 gouttes de la solution de soude. Porter au bain-marie bouillant pendant exactement 3 minutes et refroidir immédiatement sous un courant d'eau froide. En présence de paraminophénol, se développe une coloration bleue dont l'intensité est mesurée à l'électrophotomètre à 630 m μ , sous une épaisseur de 10 mm. Un témoin est réalisé avec 5 ml de solution d'acide chlorhydrique 0,1 N traités dans les mêmes conditions. Les courbes d'étalonnage ont été établies à partir d'échantillons de sang et d'urine contenant des quantités connues de paraminophénol (1).

Cette méthode permet de déceler moins de 1 microgramme de paraminophénol dans la prise d'essai.

c) Dosage des azo-dérivés.

Principe :

L'azoxybenzène et ses métabolites éventuels : l'azo- et l'hydrazobenzène sont facilement réduits par hydrogène naissant en milieu acide. Chaque molécule d'azo-dérivé donne 2 molécules d'aniline que l'on dose par colorimétrie

Réactifs :

Acide chlorhydrique concentré (D = 1,18)
Poudre de zinc

Mode opératoire :

Porter à l'ébullition pendant 30 minutes sous réfrigérant à reflux 5 ml de sang ou d'urine et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré. Ajouter 100 mg de poudre de zinc. Lorsque le dégagement d'hydrogène est terminé, doser l'aniline présente dans le milieu par colorimétrie (voir page 99). La différence entre l'aniline dosée après réduction et l'aniline totale déterminée précédemment, correspond aux azo-dérivés.

B) RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

La recherche des formes sous lesquelles s'élimine le di-anilide aconitique a été effectuée :

- a) chez l'homme après ingestion de 0,50 et 1 g de produit.
- b) chez le chien, après injection intra-veineuse de 0,12 g/kg et après ingestion de 1 g/kg.

(1) Dans les conditions opératoires, 78 à 80 % seulement du paraminophénol sont extraits du milieu. Ce taux est assez fixe pour que le dosage reste correct.

Les urines ont été prélevées toutes les heures pendant 12 heures après l'administration du produit. Chez le chien, 10 ml de sang ont été également prélevés toutes les heures pendant les premières heures.

Dans toutes ces expériences et compte tenu de la limite de sensibilité des réactions utilisées nous n'avons pu mettre en évidence dans le sang et l'urine ni aniline libre, ni paraminophénol libre ou combiné, ni azo-dérivés. Seule l'aniline, *sous une forme conjuguée*, a été décelée dans ces liquides au cours des premières heures de l'élimination.

L'absence d'autres métabolites donne à penser que le dérivé de l'aniline retrouvé n'est autre que le dianilide aconitique éliminé de l'organisme sans transformation. En effet, la présence de toute autre forme conjuguée de l'aniline impliquerait l'hydrolyse préalable du dianilide aconitique. Il est classiquement admis que les groupements aminés ne subissent dans l'organisme qu'une simple acétylation. L'hydrolyse du dianilide aconitique conduirait donc à la présence dans le sang et dans l'urine d'aniline libre, d'acétanilide et de leurs métabolites, essentiellement le paraminophénol. Il faut donc conclure de l'absence de paraminophénol dans le sang et l'urine de sujets ayant absorbé du dianilide aconitique que ce corps n'est métabolisé ni chez l'homme ni chez le chien.

3) Absorption et élimination du dianilide aconitique.

L'étude cinétique de l'absorption et de l'élimination de ce produit a été réalisée chez l'homme et chez le chien après administration orale ou intra-veineuse. Nous avons appliqué aux résultats obtenus les modes de calcul préconisés par LAPP (34-35) dans son étude théorique de l'élimination des poisons et des médicaments.

Selon cet auteur, et dans le cas le plus simple, c'est-à-dire celui où le médicament n'est ni fixé ni partiellement métabolisé dans l'organisme, l'élimination consécutive à une injection intra-veineuse est une fonction exponentielle du temps.

La quantité éliminée à l'instant t est déterminée par la relation :

$$Q = Q_0 \exp (-\lambda t)$$

relation dans laquelle Q_0 est la quantité totale éliminée et λ le décrément logarithmique.

Toute élimination précédée d'une absorption, administration orale par exemple, se traduit en fonction du temps par une courbe en cloche dont l'expression mathématique est une différence d'exponentielles.

LAPP (35) définit ces courbes à l'aide de 2 paramètres :

L'hémikrèse H est le temps que nécessite l'absorption ou l'élimination de la moitié du médicament.

La protorrhée π est la vitesse initiale de l'absorption ou de l'élimination.

La représentation logarithmique des exponentielles d'élimination (1) permet sans difficulté de déterminer la quantité totale éliminée Q_0 et le décrétement logarithmique. On en déduit également les valeurs de l'hémikrèse et de la protorrhée à l'aide des équations suivantes :

$$H = 0,30/\lambda \qquad \pi = 2,3 Q_0 \lambda$$

a) ELIMINATION CONSÉCUTIVE A UNE INJECTION INTRA-VEINEUSE.

Un chien mâle de 20 kg reçoit par voie intra-veineuse 2,35 g de dianilide aconitique sous forme de sel de sodium en solution aqueuse à 5 p. 100.

1. Variations de la concentration sanguine :

L'anilide est dosé dans le sang 5 minutes après l'injection, puis toutes les heures pendant 5 heures et enfin 8 heures après.

Les résultats sont réunis dans le tableau suivant (2) :

t en heures	Q en mg p. 100 ml	$\text{Log } Q$	Décrément logarithmique λ
0,08	138	2,140	0,348
1	62	1,792	0,212
2	38	1,580	0,219
3	23	1,361	0,215
4	14	1,146	0,217
5	8,5	0,929	
8	1,5	0,176	

(1) La représentation logarithmique d'une fonction exponentielle est une droite. La détermination de deux points en permet donc, en théorie, la construction. LAPP (36) porte en abscisses les temps et en ordonnées le logarithme décimal de la différence entre la quantité totale éliminée et la quantité éliminée à l'instant t . Dans ces conditions, la pente de la droite obtenue est égale au décrétement logarithmique de la fonction exponentielle. Son point d'intersection avec l'axe des ordonnées donne la valeur logarithmique de Q_0 quantité totale éliminée.

(2) LAPP (36) a constaté que « pour un médicament très labile et non fixé dans les tissus, l'« émie » est dans le sens de l'élimination, et ceci est d'autant plus vrai que l'hémikrèse est plus courte, de l'ordre de quelques heures ».

LAPP, *Ann. Pharm. Fr.*, **8**, 81, (1950). — *Ann. Pharm. Fr.*, **9**, 190 (1951).

La concentration sanguine du dianilide aconitique est représentée graphiquement par une fonction exponentielle du temps (fig. n° 7 a) dont la logarithmique est rectiligne (fig. n° 7 b).

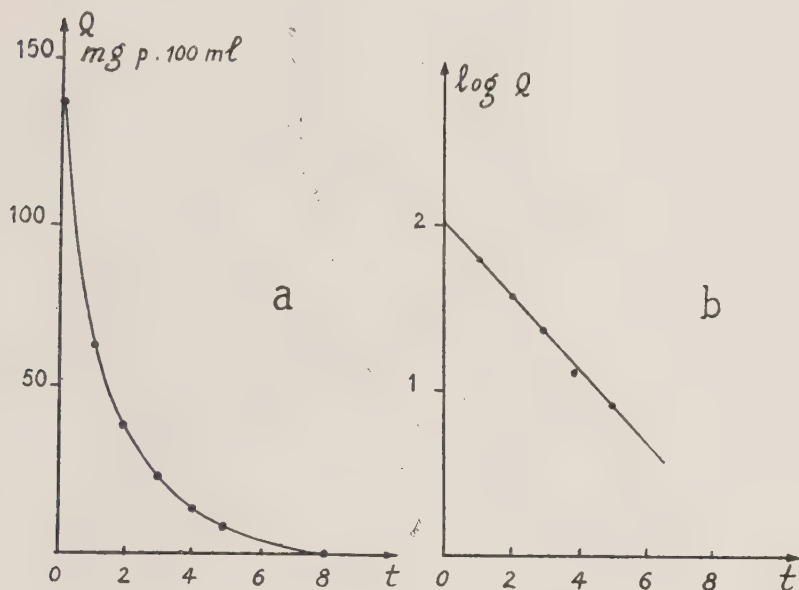


FIG. 7

Variations de la concentration sanguine en fonction du temps après injection I.-V. de dianilide aconitique

Le décrément logarithmique est égal 0,217 ; on en déduit le temps d'hémikrèse :

$$H = 0,30/\lambda = 0,30/0,217 = 1,38 \text{ heure,}$$

soit 83 minutes.

La quantité initiale Q_0 étant de 1,38 mg par ml de sang, la protorrhée π a pour valeur :

$$\pi = 2,3 Q_0 \lambda = 2,3 \times 1,38 \times 0,217 = 690\gamma/\text{h.}$$

2. Elimination urinaire :

L'élimination urinaire a été suivie sur l'urine prélevée par sondage, 2 heures, 4 heures et 8 heures après l'injection.

Les résultats sont les suivants :

<i>t</i> <i>en heures</i>	<i>Volume urinaire</i> <i>en ml</i>	<i>Concentration</i> <i>en mg p. 100 ml</i>	<i>Quantité éliminée</i> <i>en mg</i>
2	91	1515	1378 (Q ₁)
4	78	575	448 (Q ₂)
8	158	137	217 (Q ₃)

aux instants t_1 et t_2 les pentes des tangentes à la courbe sont respectivement égales à :

$$\pi_1 = Q_0 a^{-\lambda t_1}$$

$$\pi_2 = Q_0 a^{-\lambda t_2}$$

Le rapport de ces valeurs donne :

$$\pi_1/\pi_2 = a^{-\lambda(t_2 - t_1)}$$

$$\text{et } \log(\pi_1/\pi_2) = -\lambda(t_2 - t_1).$$

Pour des courbes peu accentuées, il est possible d'utiliser au lieu des tangentes les cordes sous-tendues entre 3 points expérimentaux A, B, C.

Dans ces conditions la pente de la tangente à la courbe, au milieu de l'arc AB (au temps $t_1 = 3$ heures) est assimilée à la pente de la corde AB : $Q_2/2 = 448/2 = 224$. De même, la pente de la tangente à la courbe au milieu de l'arc BC (au temps $t_2 = 6$ heures) est assimilée à la pente de la corde BC, soit $Q_3/4 = 217/4 = 54$.

Le rapport de ces valeurs est de $224/54 = 4,15$ dont le logarithme $0,618 = -\lambda(t_2 - t_1)$. On en déduit :

$$\lambda = 0,618/3 = 0,206.$$

$$H = 0,30/0,206 = 1,45 \text{ heure ou } 87 \text{ minutes.}$$

Si l'élimination urinaire de la dose injectée (2,350 g) est totale la protorrhée a pour valeur :

$$\pi = 2,3 \times 2350 \times 0,206 = 1113 \text{ mg/h.}$$

Après une injection intraveineuse, la disparition hors du sang et l'élimination urinaire du dianilide aconitique s'effectuent à une vitesse identique. Il n'y a donc pas de fixation dans les tissus ni d'autre voie d'élimination que la voie urinaire. En 85 minutes environ, la moitié de la dose injectée est éliminée par l'urine.

b) ABSORPTION DU DIANILIDE ACONITIQUE APRÈS ADMINISTRATION ORALE.

Une seule dose (2,10 g) de dianilide aconitique, en solution dans 100 ml d'eau est administrée par tubage gastrique à un chien mâle de 20 kgs.

Les prélèvements de sang (5 ml) ont été effectués 15, 30, 45 minutes, 1 heure, 1 heure 30, 2 heures et 3 heures après l'administration.

Les résultats sont les suivants :

<i>t</i> en heure	<i>Q</i> en mg p. 100 ml	<i>t</i> en heures	<i>Q</i> en mg p. 100 ml
0,25	4,0	1,50	15,0
0,50	10,9	2,0	10,7
0,75	15,2	3,0	4,8
1,00	15,5		

La représentation graphique (fig. n° 9) est une courbe en cloche correspondant à la différence de deux exponentielles, l'une d'absorption et l'autre d'élimination :

$$m = m_1 - m_2$$

La rapidité des deux phénomènes, absorption et élimination permet difficilement le calcul des coefficients des deux termes m_1 et m_2 .

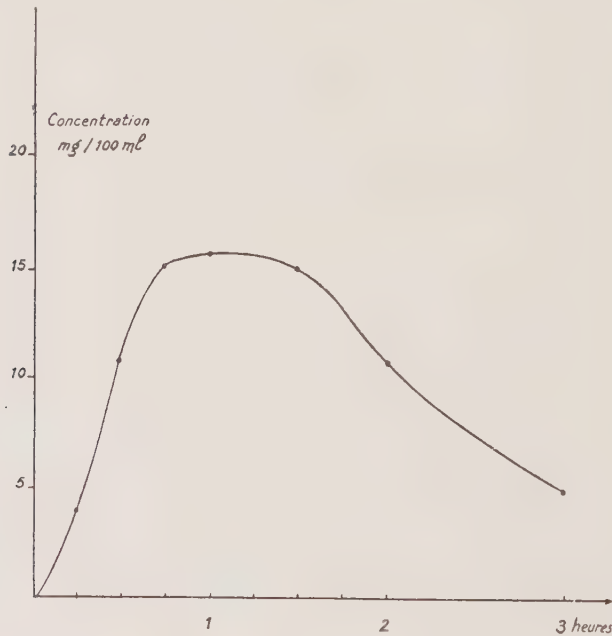


FIG. 9

*Concentration sanguine en fonction du temps.
Administration orale de 2,10 g de dianilide aconitique.*

Cependant, au cours des 45 premières minutes, les phénomènes d'absorption l'emportent de beaucoup sur l'élimination. En appliquant à cette partie de la courbe le mode de calcul précédent, on obtient un temps d'hémikrèse d'absorption de l'ordre de 25 à 30 minutes. L'absorption

intestinale est donc rapide et relativement brève. On constate d'ailleurs par le simple examen du graphique que la concentration sanguine est maximum 1 heure après l'administration orale du produit ; 3 heures après, elle n'est plus que le quart de cette valeur.

c) ELIMINATION URINAIRE CHEZ L'HOMME.
APRÈS ADMINISTRATION ORALE DE DIANILIDE ACONITIQUE.

Nous avons étudié sur nous même l'élimination urinaire du dianilide aconitique, administré oralement aux doses de 0,5, 1 et 2 grammes.

L'anilide a été ingéré le matin au réveil sous forme de cachets avec 150 ml d'eau. L'élimination urinaire a été suivie toutes les heures pendant les 5 premières heures, puis toutes les 2 ou 3 heures jusqu'à 16 heures après l'administration. La mesure du volume total émis et le dosage de l'aniline combinée permettent de déterminer à chaque instant la quantité totale éliminée.

Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau suivant (voir p. 110) où figurent également les différences entre la quantité éliminée totale et celle éliminée à l'instant t . Ces déterminations permettent le calcul des coefficients d'élimination définis par LAMP.

La comparaison de ces résultats permet les remarques suivantes :

L'élimination urinaire totale, et par suite l'absorption, ne sont pas proportionnelles aux doses ingérées. Pour les doses de 0,50, 1 et 2 grammes les pourcentages de l'élimination totale ont été de : 16,5, 13,5 et 11,5.

Les courbes d'élimination urinaire pour les 3 doses expérimentées sont réunies sur le même graphique (fig. n° 10a). Les logarithmiques qui en dérivent (fig. n° 10b) sont réunis sur une même droite, au moins dans l'intervalle 2-5 heures (voir p. 111). L'élimination est donc une fonction exponentielle du temps. Les droites qui correspondent à l'élimination de 1 et de 2 grammes de produit sont parallèles. On en déduit que les vitesses d'élimination sont identiques pour ces 2 doses. L'élimination consécutive à l'ingestion de 0,50 g d'anilide est légèrement plus lente que les deux autres.

Les coefficients d'élimination sont les suivants dans ces trois expériences :

a) Dose ingérée 0,50 gramme :

Temps d'hémikrèse $H = 0,30/\lambda = 0,30/0,15 = 2$ heures

Protorrhée $\pi = 2,3 \times 0,15 \times 82,6 = 28,5$ mg/heure

Rapport de la protorrhée à la dose : $\pi/D = 28,5/500 = 0,057$

ELIMINATION URINAIRE DU DIANILIDE ACONITIQUE CHEZ L'HOMME

<i>t</i> en heures	Volume urinaire émis en ml	Dianilide aconitique			Différence $Q^0 - Q$ en mg	Log. Δ	λ
		Concentration en mg p. 100 ml	Quantité éliminée en mg	Q. totale éliminée en mg			

APRÈS ADMINISTRATION ORALE DE 0,50 GRAMME

0	200	0	0	0	82,58	1,917	
1	40	11,12	4,45	4,45	78,13	1,892	0,14
2	220	9,75	21,45	25,90	56,68	1,753	0,14
3	330	4,82	15,90	41,80	40,78	1,610	0,17
4	70	19,00	13,30	55,10	27,48	1,439	0,14
5	55	13,80	7,60	62,70	19,88	1,298	0,15
7	156	6,25	9,75	72,45	10,13	1,006	
10	173	3,35	5,80	78,25	4,33	0,636	
12	243	1,50	3,65	81,90	0,68		
16	225	0,30	0,68	82,58	0		

APRÈS ADMINISTRATION ORALE DE 1 GRAMME

0	150	0	0	0	135,00	2,130	
1	100	38,90	38,90	38,90	96,10	1,983	0,147
2	125	30,00	37,50	76,40	58,60	1,768	0,215
3	90	21,10	19,00	95,40	39,60	1,598	0,17
4	60	22,30	13,40	108,80	26,20	1,418	0,18
5	85	9,94	8,45	117,25	17,75	1,249	0,169
8	180	6,72	12,10	129,35	5,65	0,752	
12	212	2,12	4,50	133,85	1,15	0,061	
16	285	0,40	1,15	135,00	0		

APRÈS ADMINISTRATION ORALE DE 2 GRAMMES

0	95	0	0	0	232,4	2,366	
1	70	75,0	52,5	52,5	179,9	2,255	0,111
2	105	70,4	73,8	126,3	106,1	2,026	0,229
3	58	61,9	35,9	162,2	70,2	1,846	0,18
4	83	29,0	24,1	186,3	46,1	1,664	0,182
5	66	23,3	15,4	201,7	30,7	1,487	0,177
8	220	9,4	20,7	222,4	10,0	1,000	
12	170	4,65	7,9	230,3	2,1	0,322	
16	230	0,91	2,1	232,4	0		

b) Dose ingérée 1 gramme :

Temps d'hémikrèse $H = 0,30/\lambda = 0,30/0,17$
 $= 1,76$ heure soit 105 minutes.

Protorrhée $\pi = 2,3 \times 0,17 \times 135 = 52,8\text{mg/heure}$

Rapport de la protorrhée à la dose π/D est de :
 $52,8/1000 = 0,053$

c) Dose ingérée 2 grammes :

Temps d'hémikrèse $H = 0,30/\lambda = 0,30/0,18$
 $= 1,66$ heure soit 100 minutes

Protorrhée $\pi = 2,3 \times 0,18 \times 232,4 = 97$ mg/heure

Rapport de la protorrhée à la dose π/D est de :
 $97/2000 = 0,0485$

L'accord entre l'ensemble de ces résultats est donc satisfaisant.

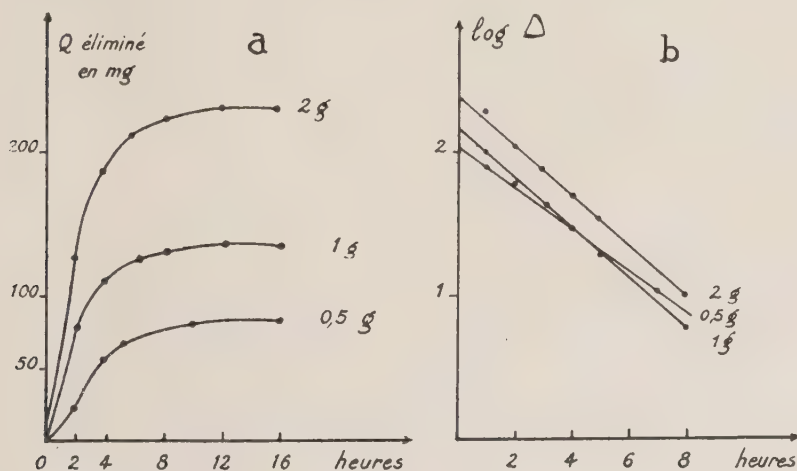


FIG. 10
 Elimination urinaire du dianilide aconitique
 après administration orale.

Chez l'homme et chez le chien, l'élimination urinaire du dianilide aconitique est assez rapide. Le temps d'hémikrèse varie de 90 à 120 minutes suivant le mode d'administration et les doses utilisées. Le rapport de la protorrhée à la dose ingérée est toujours très voisin de 0,05

Il est difficile de comparer l'élimination urinaire du dianilide aconitique à celle beaucoup plus complexe de l'acétanilide. Cependant des résultats qu'ont publiés

GREENBERG et LESTER (24) d'une part, et BRODIE et AXELROD (7) d'autre part, sur l'élimination de l'acétanilide et de ses métabolites, on peut semble-t-il, tirer les conclusions suivantes :

1. L'élimination urinaire de l'acétanilide et sa disparition du sang sont totales 6 heures environ après l'administration. En appliquant aux chiffres indiqués le mode de calcul préconisé par LAPP (37) on trouve pour ce corps à élimination rapide un temps d'hémikrèse compris entre 1 heure 30 et 2 heures, chiffres voisins de l'hémikrèse d'élimination du dianilide aconitique.

2. Dans les heures suivantes, seule compte l'élimination du paraminophénol. Pour ce corps à élimination plus lente, le temps d'hémikrèse a été trouvé de 3 à 4 heures. Le rapport de la protorrhée à la dose ingérée est voisin de 0,2 pour des doses d'acétanilide comprises entre 0,33 et 0,98 g.

La disparition de l'acétanilide et du dianilide aconitique dans l'organisme a donc lieu rapidement et dans des temps très voisins ; mais, dans le cas de l'acétanilide l'élimination rapide d'une partie non transformée est suivie de l'élimination lente et beaucoup plus importante de dérivés du paraminophénol.

4) Rapport érythro-plasmatique.

a) *Distribution du dianilide aconitique dans le sang in vitro.*

En 1937, FULTON (22) a établi qu'il existait un certain rapport entre la toxicité et la fixation des médicaments sur les globules rouges. En particulier, la comparaison, très significative, de la toxicité des alcaloïdes du quinquina et de leur distribution dans le sang in vitro a été réalisée récemment par CARLSON et CRETCHER (9).

Nous avons suivi le mode opératoire préconisé par ces derniers auteurs dans notre étude du dianilide aconitique et de l'acétanilide :

A 9 ml de sang de bœuf oxalaté, ajouter 1 ml de solution aqueuse à 1 p. 100 d'anilide. Laisser 30 minutes à la température du laboratoire en agitant fréquemment. Centrifuger à grande vitesse pendant 15 minutes et doser l'anilide par colorimétrie (1) dans le plasma et les cellules.

(1) Voir page 99.

GREENBERG et LESTER. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **88**, 87, (1946).

BRODIE et AXELROD. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **94**, 29 (1948).

LAPP Ch. et LAPP C. F. *Ann. Pharm. Fr.*, **10**, 88, (1952).

FULTON. *Ann. Trop. Med. et Parasitol.*, **31**, 7, (1937).

CARLSON et CRETCHER. *J. of Pharm. Ass., Sc. Ed.*, **40**, 471, (1951).

Les résultats sont les suivants :

	<i>Concentration dans les G.R. en p. 100 de la quantité totale</i>	<i>Concentration dans le plasma en p. 100 de la quantité totale</i>
Dianilide aconitique	48 - 47	52 - 53
Acétanilide	50	50

In vitro, les concentrations du dianilide aconitique et de l'acétanilide sont identiques dans les globules et le plasma.

b) *Variations du rapport érythro-plasmatique,
chez le chien,
au cours de l'élimination du dianilide aconitique.*

Ces déterminations ont été réalisées en même temps que l'étude cinétique de la concentration sanguine après injection intra-veineuse. Les concentrations plasmatiques et globulaire ont été mesurées toutes les heures pendant les cinq premières heures de l'élimination.

Les résultats sont les suivants :

*DISTRIBUTION DANS LE SANG DU DIANILIDE ACONITIQUE
APRÈS INJECTION INTRA-VEINEUSE*

<i>Temps en heures</i>	<i>Concentration plasmatique en mg p. 100 ml</i>	<i>Concentration globulaire en mg p. 100 ml</i>	<i>Rapport érythro- plasmatique</i>
0,08	141,4	104,0	0,73
1	650,0	560,0	0,87
2	395,0	340,0	0,86
3	200,0	275,0	1,38
4	138,0	165,0	1,20
5	84,5	93,0	1,10

Des variations analogues du rapport érythro-plasmatique ont été observées avec l'acétanilide (GREENBERG et LESTER (25)).

Il ne paraît pas y avoir une fixation élective de ces anilides au niveau des hématies mais un simple retard dans leur diffusion.

CHAPITRE IV

Essai d'interprétation

La comparaison des propriétés physiologiques des anilides et aniles aconitiques et citriques impose les quelques remarques suivantes :

1. Les trianilides et les anilanilides citriques et aconitiques ne sont pas méthémoglobinisants chez l'homme et ne possèdent aucune activité antipyrétique chez le lapin en état d'hyperthermie provoquée.

Leur inactivité peut s'expliquer aisément par leur insolubilité dans l'eau. Cette propriété exclut la transformation des anilanilides dans l'intestin en dianilides physiologiquement actifs. Nous avons vérifié que l'administration orale de ces dérivés n'entraîne pas la présence d'anilides dans l'urine, comme cela a lieu après ingestion des autres anilides citriques et aconitiques.

2. L'innocuité de très fortes doses du dianilide aconitique ne peut s'expliquer simplement, nous l'avons déjà dit, par l'absence de méthémoglobinémie consécutive à son administration car le monoanilide aconitique possède les mêmes propriétés physiologiques et présente au contraire une certaine toxicité malgré un pourcentage plus faible en aniline. FEATHERSTONE et VENTRE (19) qui ont déterminé chez le rat la DL 50 du monoanilide aconitique et celle de l'acétanilide concluent à une toxicité identique des deux anilides si l'on tient compte des quantités d'aniline apportées. Le tableau suivant permet la comparaison des doses

toxiques avec celles du dianilide aconitique que nous avons expérimentées sur le même animal.

Dénomination	Doses en g/kg	Aniline p. 100	Aniline en g	Observations
Dianilide aconitique	5	57,4	2,87	Aucun effet toxique
Dianilide aconitique	10	57,4	5,74	Aucun effet toxique
Monoanilide aconitique	4,0	37	1,5	D.L. 50 (FEATHERSTONE et VENTRE)
Acétanilide	2,42	68	1,6	D.L. 50

Les doses que nous avons mises en œuvre sont donc 2 à 4 fois supérieures à la DL 50 du monoanilide aconitique ; mais quelles sont les quantités réellement absorbées ?

Le monoanilide aconitique est très soluble dans l'eau (7,25 g p. 100 ml), on peut admettre que son absorption doit au moins égaler celle de l'acétanilide et correspondre à 90-95 p. 100 environ de la dose ingérée. Il n'en est pas de même du dianilide aconitique beaucoup moins soluble (0,22 g. p. 100 ml). Son absorption dans les essais effectués sur l'homme n'a jamais dépassé 16,5 p. 100 de la dose ingérée et ce pourcentage déjà faible diminue encore lorsqu'on élève les doses. Il n'est donc pas possible d'atteindre effectivement les doses léthales et le dianilide aconitique doit son innocuité à sa faible solubilité.

3. Le tableau suivant permet la comparaison des propriétés physiologiques du dianilide aconitique et de l'acétanilide.

ACÉTANILIDE	DIANILIDE ACONITIQUE
Méthémoglobinisant	Non méthémoglobinisant
Antipyrétique actif	Antipyrétique actif
Légèrement antithermique	Légèrement antithermique
Hydrolyse enzymatique rapide par les extraits tissulaires (foie - reins).	Hydrolyse enzymatique pratiquement nulle par les extraits tissulaires (foie - reins).
Absorption rapide (90 à 95 p. 100 de la dose ingérée).	Absorption rapide (12 à 16,5 p. 100 de la dose ingérée).
Rapport érythroplasmatique de 0,8 à 1,4.	Rapport érythroplasmatique de 0,8 à 1,4.
Élimination urinaire : Acétanilide : 0,2 à 0,6 p. 100 de la dose ingérée, durée 5 à 6 h. Paraminophénol : 90 à 95 p. 100 de la dose ingérée, durée 25 h. Aniline libre : traces dosables. Azo-dérivés : traces.	Élimination urinaire : N'est pas métabolisé dans l'organisme. Élimination de 90 p. 100 de la quantité absorbée en 8 h. Absence d'aniline libre dans le plasma.

Ces deux anilides se distinguent donc essentiellement par leur métabolisme et par leur action sur l'hémoglobine.

D'après BRODIE et AXELROD (7) l'acétanilide serait sans action sur l'hémoglobine *in vivo*. Son action méthémoglobinisante ne serait due qu'à la seule désacétylation d'une faible quantité de ce dérivé en aniline libre. L'absence simultanée d'aniline libre et de méthémoglobine, dans le sang après ingestion de dianilide aconitique est en accord avec cette hypothèse.

L'oxydation de l'acétanilide et d'autres anilides doués de propriétés thérapeutiques (phénacétine, exalgine) en dérivés du paraminophénol est très rapide dans l'organisme. En s'appuyant sur ce fait expérimental, FLINN et BRODIE (21) estiment que les propriétés physiologiques classiquement attribuées à ces anilides sont en réalité celles de leur métabolite essentiel, le paraminophénol. Si nos recherches personnelles n'infirmant pas absolument cette hypothèse, elles démontrent cependant que les activités antipyrétiques et antithermiques des anilides peuvent ne pas être liées à la production de paraminophénol dans le sang. Au contraire, l'activité antipyrétique du dianilide aconitique ne s'accompagne pas des effets secondaires toxiques (atteinte de l'hémoglobine ou des hématies) signalés avec les antipyrétiques usuels.

Ces conclusions donnent une place privilégiée au dianilide aconitique dans le groupe des anilides antipyrétiques.

CONCLUSIONS

1. Les anilides citriques déshydratés en vue de la synthèse de dérivés quinoléiques donnent des résultats négatifs. On obtient uniquement les aniles aconitiques à structure pyrrolique.

2. Nous avons précisé les modes d'obtention — techniques et rendements — et les propriétés physico-chimiques des produits de condensation de l'aniline avec les acides citrique et aconitique :

A) *Acide citrique* :

Le mélange d'acide citrique et d'aniline en excès, chauffé à 150° C. conduit au citrylanilanilide avec un rendement de 80 p. 100, contre 20 p. 100 de trianilide citrique.

Par contre, par chauffage à 130° C. du même mélange, on obtient le trianilide citrique avec un rendement de 90 p. 100.

Le dianilide citrique dérive du citrylanilanilide par hydrolyse ammoniacale (rendement 92 p. 100).

Le monoanilide a été obtenu avec un rendement de 38 p. 100 à partir du citrate monoanilique chauffé entre 110 et 120° C.

L'acide citrylanile-carboxylique préparé par la méthode de NAC s'obtient avec un rendement de 76 p. 100.

B) *Acide aconitique* :

L'acide aconitique chauffé à 140-150° C. en présence d'un excès d'aniline (méthode de MICHAEL) conduit *exclusivement* à l'aconitylanilanilide (rendement 80 p. 100).

Au lieu de partir de l'acide aconitique, il est possible d'utiliser l'acide citrique dont il dérive. En effet, en chauffant à 140-150° C., une molécule d'acide citrique et deux molécules d'aniline en présence d'acide sulfurique, nous avons obtenu l'aconitylanilanilide avec un rendement de 80 p. 100 alors que le rendement de la méthode de MICHAEL, rapporté à l'acide citrique, est voisin de 37 p. 100.

Nous avons obtenu l'acide aconitylanile-carboxylique par chauffage à 140° C. de l'aconitate monoanilique (rendement 62 p. 100).

A cette même température, le chauffage d'un mélange équimoléculaire d'acide citrique et d'aniline, en présence d'acide sulfurique, conduit à l'acide aconitylanile-carboxylique avec un rendement de 80 p. 100 environ (réaction personnelle comme la précédente).

Le chauffage direct d'un mélange d'acide aconitique et d'aniline ne permet pas d'obtenir les anilides aconitiques.

Nous avons obtenu le monoanilide et le dianilide en hydrolysant les aniles aconitiques au moyen d'une solution de carbonate neutre de sodium. Cette réaction ne s'applique pas aux aniles citriques.

Le trianilide aconitique cristallisé peut se préparer comme nous l'avons démontré, en chauffant à 130°C. le sel d'aniline du dianilide aconitique. Ce corps n'avait jamais été décrit, à notre connaissance du moins.

3. Nous avons signalé l'existence de deux isomères cis-trans du dianilide aconitique et discuté de la possibilité d'isoméries de position pour les anilides acides.

4. Chemin faisant, nous avons décrit une nouvelle réaction colorée de l'acide aconitique, sensible et spécifique, permettant de le déceler en présence de quantités d'acide citrique cent fois supérieures.

5. Nous avons étudié quelques-unes des propriétés physiologiques de ces anilides, comparées à celles de l'acétanilide :

Les deux trianilides et les deux anilanilides, insolubles dans l'eau sont dépourvus d'activité physiologique.

Les monoanilides et les dianilides acides sont antipyrétiques et antithermiques sur le lapin, au même titre que l'acétanilide.

Les anilides citriques sont peu méthémoglobinisants chez l'homme, les anilides aconitiques ne le sont pas. Ceci les différencie nettement de l'acétanilide méthémoglobinisant dès les doses thérapeutiques.

Le dianilide aconitique, spécialement étudié, est dépourvu d'effet toxique secondaire.

BIBLIOGRAPHIE

(Les pages de la thèse où il est fait mention des auteurs ci-dessous, sont indiquées entre parenthèses après chaque référence).

1. BACHEBERG (O. G.). — The action of Phosphorus pentachloride on acetanilide. *J. Chem. Soc.*, 1138 (1932). (61).
2. BANKS (J.). — *Am. J. Clin. Path.*, **4**, 260 (1934). (89).
3. BERLINGOZZI. — *Ann. Chim. Applicata*, **24**, 217 (1934). (64).
4. BILLIEMAZ (G.). — Contribution à l'étude des propriétés antipyrétiques de quelques médicaments. *Thèse Doct. Pharm. Univ. Lyon* (1951). (87, 88, 90, 93).
5. BOUTHIER (G.). — Recherches des substances pyrogènes dans les solutés injectables. *Thèse Doct. Pharm. Univ. Lyon* (1949). (88, 89).
6. BRODIE (B. B.), AXELROD (J.). — The estimation of acetanilide and its metabolic products, aniline, N-acetylparaminophenol and paraminophenol (free and conjugated) in biological fluids and tissues. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **94**, 23, (1948). (99).
7. BRODIE (B. B.), AXELROD (J.). — The fate of acetanilide in man. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **94**, 29 (1948). (81, 99, 112, 117).
8. CALVET (E.). — Vitesses et chaleurs de saponification des amides. *Bull. Soc. Chim.*, **51**, 719 (1932). (71).
9. CARLSON (W. W.), CRETCHER (L. H.). — The blood distribution and toxicity of several cinchonina alkaloides derivatives. *J. of Pharm. Assoc. Scient. Ed.*, **40**, 471 (1951). (112).
10. CASTANG (M.). — Contribution à l'étude des substances pyrogènes, origine et propriétés. *Thèse Doct. Pharm. Univ. Lyon* (1951). (93).

11. COMBES (A.). — Sur les synthèses dans la série quinoléique au moyen de l'acétylacétone et de ses dérivés. *Bull. Soc. Chim.*, **49**, 89 (1888).
(11).
12. DAVIS (O. C. M.). — The quantitative decomposition of the anilides. *J. Chem. Soc.*, **95**, 1397 (1909).
(71).
13. DENIGÈS (G.), CHELLE (L.), LABAT (A.). — Précis de Chimie analytique. Maloine, Ed. Paris, 1931, p. 231.
(29).
14. DI MENTO (F.). — Sulla preparazione della citroanilide. *Ann. Chim. Applicata*, **24**, 464 (1934).
(12, 40, 62).
15. DORCHE (J.), BOUTHIER (G.). — Sur la recherche des substances pyrogènes dans les solutés injectables. *Ann. Pharm. Fr.*, **7**, 267 (1949).
(88, 93).
16. DREVON (B.). — Dispositif simple pour le microdosage de l'alcool dans le sang et autres liquides biologiques. *Lyon Pharmaceutique*, N^{os} 3 et 4, p. 1 (1946).
(42).
17. DREVON (B.), ROUSSIN. — Kjeldahlisation de quelques alcaloïdes en présence de catalyseurs complexes au mercure, cuivre et sélénium. *J. P. C.*, **132**, 18 (1940).
(22).
18. EVELYN (K. A.), MALLOY (H. T.). — Microdetermination of oxy-hemoglobin, methemoglobin and sulfohemoglobin in a single sample of blood. *J. Biol. Chem.*, **126**, 655 (1938).
(82).
19. FEATHERSTONE (O.), VENTRE (K.). — Some pharmacological properties of the monoanilide of aconitic acid. *Proc. of Soc. Exptl. Bio. and Med.*, **62**, 68 (1946).
(12, 115).
20. FLEURY (P.), LEVALTIER (H.). — Le dosage de l'azote par la méthode de KJELDAHL. Essai de généralisation. *Bull. Soc. Chim.*, **37**, 330 (1925).
(22).
21. FLINN (F. B.), BRODIE (B. B.). — Effect on pain threshold of N-acetylparaminophenol, a product derived in the body from acetanilid. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **94**, 76 (1948).
(117).
22. FULTON (J. D.). — Rapport entre toxicité et fixation sur les hématies. *Ann. Trop. Med. et Parasitol.*, **31**, 7 (1937).
(112).
23. FÜRTH (O.), HERRMANN (H.). — Farben reaktion der Weinsäure, Citronensäure und Aconitsäure. *Biochem. Zeits.*, **280**, 448 (1935).
(65, 69).
24. GREENBERG (L. A.), LESTER (D.). — The metabolic fate of acetanilid and other aniline derivatives. (I) Major metabolites of acetanilid appearing in urine. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **88**, 87 (1946).
(81, 98, 112).

25. GREENBERG (L. A.), LESTER (D.). — The metabolic fate of acetanilid and other aniline derivatives. (II) Major metabolites of acetanilid appearing in the blood. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **90**, 68 (1947).
(81, 113).
26. GREENBERG (L. A.), LESTER (D.). — The metabolic fate of acetanilid and other aniline derivatives. (III) The role of paraminophenol in the production of methemoglobinemia after acetanilid. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **90**, 150 (1947).
(81).
27. HAZARD (R.). — Précis de Thérapeutique et Pharmacologie. — Masson Ed. (1950), pp. 72, 74, 607.
(87, 88, 95).
28. HEIMANN (P.). — Recherches sur la synthèse de la 2-4 dihydroxyquinoléine et de ses dérivés. Contribution à l'étude de leur constitution. *Thèse Doct. Univ. Dijon* (1937).
(11, 62, 63).
29. HENTSCHEL (M. W.). — Darstellung von Aconitsäure. *J. Prakt. Chem.*, **35**, 205 (1887). — Cité par WURTZ. *Dictionnaire de Chimie pure et appliquée* (2^e supplément), p. 95 (64).
(49).
30. JONES (J. W.), ORTON (K. J.). — The chlorination of acetanilid. *J. Chem. Soc.*, **95**, 1056 (1909).
(33).
31. JUNG (F.). — Studien über Methämoglobinbildung. *Arch. Exp. Path. Pharmacol.*, **195**, 208 (1940).
(99).
32. KÖFLER (L.), KÖFLER (H.). — Mikromethoden zur Kennzeichnung organische Stoffe und Stoffgemische. Universitätsverlag, WAGNER, Innsbruck (1948).
(19).
33. LANG (W.). — Xanthidrol als Farbreagens in der qualitativen Arzneimittelanalyse. *Arzneimittel Forschung*, **1**, 230 (1951).
(36, 37).
34. LAPP (Ch.). — Mode d'élimination des poisons. Définition de nouveaux coefficients toxicologiques. *Ann. Pharm. Fr.*, **6**, 150 (1948).
(80, 103).
35. LAPP (Ch.). — La cinétique de l'élimination des drogues. Acquisitions nouvelles de la théorie (résultats numériques). *Ann. Pharm. Fr.*, **8**, 81 (1950).
(80, 103, 104).
36. LAPP (Ch.). — Elimination et accumulation. Hémikrèse et protorrhée selon les méthodes d'administration des médicaments. *Ann. Pharm. Fr.*, **9**, 190 (1951).
(104).
37. LAPP (Ch.), LAPP (C.-F.). — Calcul des constantes d'élimination (hémikrèse et protorrhée) dans le cas des courbes incomplètes et applications à la clinique. *Ann. Pharm. Fr.*, **10**, 88 (1952).
(106, 112).

38. LESTER (D.). — Formation of methemoglobin, species differences with acetanilid and acetophenetidine. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **77**, 154 (1943).
(81, 95).
39. MALACHOWSKI (R.). — Equilibrium in aqueous solutions of aconitic acid. *Bull. Intern. Acad. Polonaise*, **A**, 369 (1931).
(77).
40. MALACHOWSKI (R.), MALOWSKI (M.). — Stereochemie der Aconitsäuren. *Ber. D. Chem. Ges.*, **61 B**, 2521 (1928).
(76).
41. MEYER (A.), HEIMANN (P.). — Nouvelle méthode de synthèse des dérivés de la 2-4 dihydroxyquinoléine à partir des éthers maloniques et des amines aromatiques. *C. R. Ac. Sc.*, **204**, 1204 (1937).
(63).
42. MICHAEL (A.). — Ueber einen Zusammenhang zwischen Anilidbildung und der Constitution ungesättigter, mehrbasischen organischer Säuren. *Ber. D. Chem. Ges.*, **19**, 1372 (1886).
(56).
43. MICHAEL (A.). — Behaviour of aconitic acid towards aniline. *Chem. Am. J.*, **9**, 192 (1887).
(12, 50).
44. MICHEL (H. O.), BERNHEIM (F.), BERNHEIM (M. L. C.). — The hydrolysis of acetanilide by various tissues. *J. of Pharm. and Exptl. Ther.*, **61**, 321 (1937).
(97).
45. NAU (C. A.), BROWN (E. B.), BAILEY (J. R.). — Methylene citric anhydride. The aniline derivatives of citric and aconitic acids. *J. Am. Chem. Soc.*, **47**, 2596 (1925).
(12, 45, 47, 61).
46. *Organic Syntheses*. **24**, 68 (1944).
(64).
47. PEBAL (L.). — Über der Constitution der Citronensäuren. *Ann.* **82**, 78 (1852).
(12, 36).
48. PEBAL (L.). — Über der Constitution der Citronensäuren. *Ann.* **98**, 67 (1856).
(12).
49. PESEZ et POIRIER. — Méthodes et réactions de l'analyse organique I. — Masson Ed. Paris (1952).
(20).
50. POE (C. F.), NADLER (M. E.). — Combinaison de catalyseurs pour réduire le temps d'attaque dans le dosage de l'azote. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **7**, 189 (1935).
(22).
51. RAMART-LUCAS (Mme), LACLOTRE, AGNOTOPOULOS. — Action des dérivés organo-magnésiens sur les amides primaires α substitués. *C. R. Ac. Sc.*, **185**, 282 (1927).
(28).
52. RAST (K.). — *Ber. D. Chem. Ges.*, **55**, 1051 et 3727 (1922). — Cité par PESEZ et POIRIER (49), p. 36.
(20).

53. ROBERTS (E.), TURNER (E. E.). — The factors controlling the formation of some derivatives of quinoline and a new aspect of the quinolin series. *J. Chem. Soc.*, **131**, 1832 (1927).
(11).
 54. ROEDE (G.). — Color reaction of some aliphatic acids. *J. Am. Pharm. Ass., Sc. Ed.*, **30**, 74 (1941).
(69).
 55. RUGHEIMER (L.), HOFFMANN (R.). — Ueber Malonanilid säureäther, Malon-p-toluid säure und Methyltrichlorchinolin. *Ber. D. Chem. Ges.*, **17**, 739 (1885).
(11).
 56. SIVADJIAN (J.). — Les fièvres et les médicaments antithermiques. — Hermann et Cie Ed., Paris (1935).
(87).
 57. SKINNEY (S.), RUHEMANN (S.). — Contribution to the knowledge of citric and aconitic acids. *J. Chem. Soc.*, **55**, 235, (1889).
(12, 31, 72, 75).
 58. SZIGETI. — *Vjschr. Gerichtl. Med.*, **3**, 9 (suppl.) (1893). — Cité par LESTER (D.) (38), p. 154.
(81).
 59. UNGNADE (H. E.), KERR (V.), YOUSE (E.). — Deviations from Beer's law in the ultra-violet spectra of some organic compounds. *Science*, **113**, 601 (1951).
(28).
 60. VON BRAUN (J.), HEYMONS (A.). — Imid und Amid-chlorid nicht aromatischer Säuren : Ein neuer Weg in die chinolin-Reihe. *Ber. D. Chem. Ges.*, **63**, 3191 (1930).
(61).
 61. WELCH, CALVERY, MC CLOSKEY, PRICE. — *J. Am. Pharm. Ass., Sc. Ed.*, **32**, 65 (1943).
(89).
 62. WILLIAMS (V. Z.). — Tables de spectres infra-rouge. *Rev. Sci. Instrum.*, **19**, 135 (1948).
(41).
 63. WOLFRUM (L.), PINNOW (J.). — Über die Citroäthylestersäuren. *J. Prakt. Chem.*, **97**, 23 (1918).
(74, 75).
 64. WURTZ (A. D.). — *Dictionnaire de Chimie pure et appliquée*, 2^e supplément. Hachette Ed., Paris (1892), p. 95.
(49).
-

TABLE DES MATIÈRES

	PAGES
INTRODUCTION	11
PREMIÈRE PARTIE	
ETUDE CHIMIQUE DES ANILIDES ET ANILES CITRIQUES ET ACONITIQUES	
CHAPITRE PREMIER. — <i>Méthodes d'analyse</i>	19
CHAPITRE II. — <i>Réactions des anilides et aniles citri- ques et aconitiques</i>	27
CHAPITRE III. — <i>Préparation des anilides et aniles citriques et aconitiques</i>	39
CHAPITRE IV. — <i>Action des déshydratants sur les anili- des citriques</i>	61
CHAPITRE V. — <i>Essai d'interprétation des résultats</i> ..	71
SECONDE PARTIE	
ETUDE DE QUELQUES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES DES ANILIDES ET ANILES CITRIQUES ET ACONITIQUES	
CHAPITRE PREMIER. — <i>Action méthémoglobinisante</i> ...	81
CHAPITRE II. — <i>Action sur la température corporelle.</i>	87
CHAPITRE III. — <i>Etude particulière du dianilide aconi- lique</i>	95
CHAPITRE IV. — <i>Essai d'interprétation</i>	115
CONCLUSIONS	119
BIBLIOGRAPHIE	121

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

**Connaissances actuelles
sur la structure de la Vitamine B₁₂
(cyanocobalamine)
et ses propriétés physico-chimiques**

Vu :

Le Président du Jury :

A. LEULIER

Vu :

Le Doyen :

H. HERMANN

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 15 Décembre 1953.

Le Recteur :

André ALLIX.

